

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平11-511472

(43) 公表日 平成11年(1999)10月5日

(51) Int.Cl.⁶
A 6 1 K 45/00
31/00
31/19
31/235
31/44

識別記号

6 0 3
6 0 2

F I

A 6 1 K 45/00
31/00
31/19
31/235
31/44
6 0 3 N
6 0 2

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 47 頁)

(21) 出願番号 特願平9-512842
(86) (22) 出願日 平成8年(1996)9月17日
(85) 翻訳文提出日 平成10年(1998)3月18日
(86) 国際出願番号 PCT/US 96/14904
(87) 国際公開番号 WO 97/10819
(87) 国際公開日 平成9年(1997)3月27日
(31) 優先権主張番号 60/003, 869
(32) 優先日 1995年9月18日
(33) 優先権主張国 米国 (US)
(31) 優先権主張番号 60/004, 897
(32) 優先日 1995年10月6日
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 リガンド・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国92121カリフォルニア州
サン・ディエゴ、タウン・センター・ドライブ 9393番

(72) 発明者 ヘイマン, リチャード・エイ
アメリカ合衆国92024カリフォルニア州
エンシニタス、ハニーコーム・コート147番

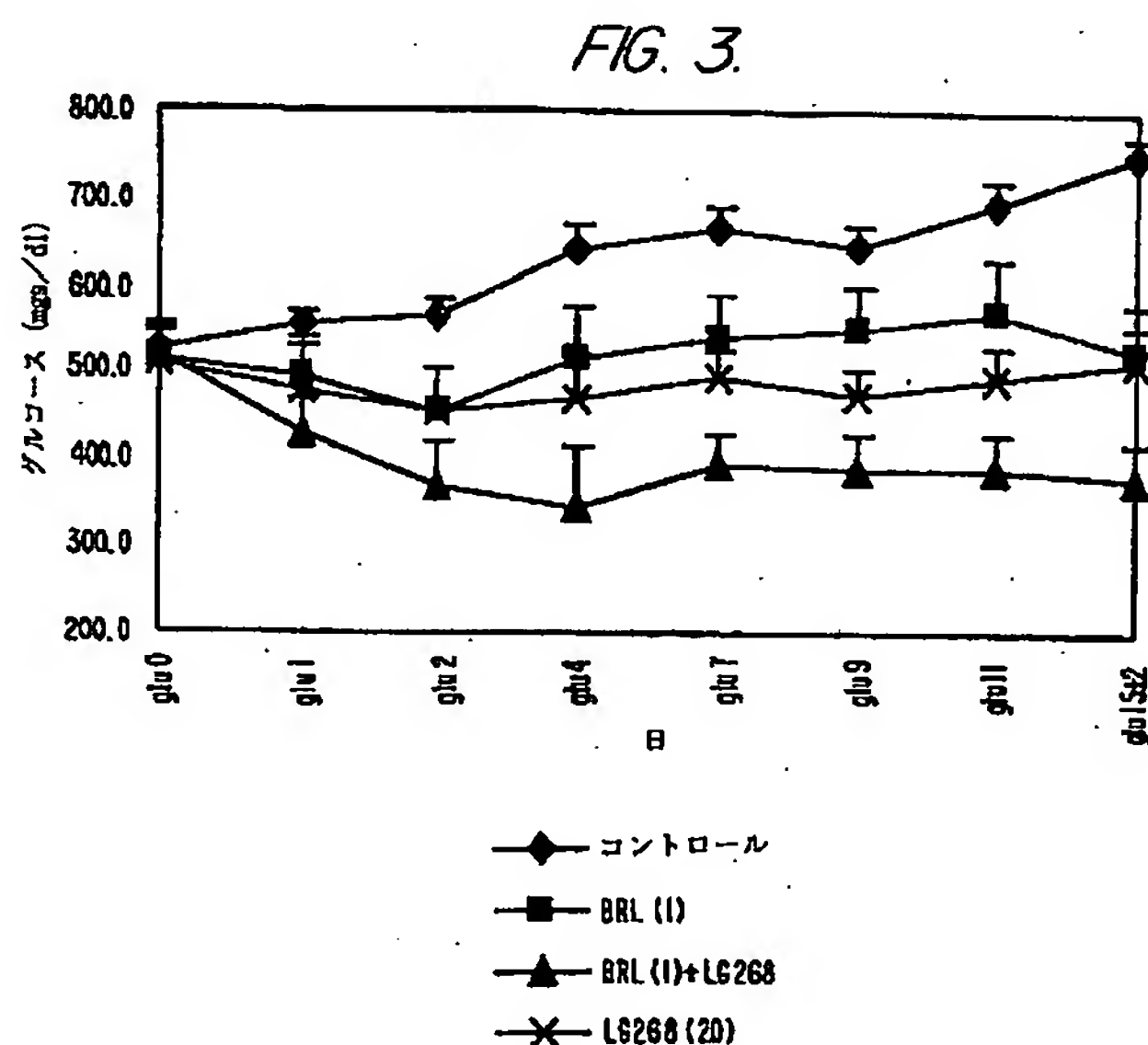
(74) 代理人 弁理士 青山 葆 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 RXRアゴニストを用いたNIDDMの治療

(57) 【要約】

本発明はRXRアゴニストを単独でまたはチアソリジンジオン化合物などのPPAR γ アゴニストと組み合わせて使用してインスリン非依存性糖尿病の治療のための方法および組成物に関する。



BEST AVAILABLE COPY

【特許請求の範囲】

1. 宿主にRXRアゴニストの製薬学的に有効な量を含む組成物を投与する工程を含む、NIDDMを有する宿主を治療する方法。

2. 該宿主にPPAR γ アゴニストの製薬学的に有効な量を含む組成物を投与する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

3. 該組成物がPPAR γ アゴニストの製薬学的に有効な量をさらに含む請求項1に記載の方法。

4. 該RXRアゴニストがRXR特異的アゴニストである請求項1に記載の方法。

5. 該RXRアゴニストがLG100268である請求項4に記載の方法。

6. 該RXRアゴニストがLGD1069である請求項4に記載の方法。

7. 該RXRアゴニストがまたレチノイン酸受容体を活性化させる請求項1に記載の方法。

8. 該RXRアゴニストが9-シスレチノイン酸である請求項7に記載の方法。

9. 該PPAR γ アゴニストがチアゾリジンジオン化合物である請求項2に記載の方法。

10. 該チアゾリジンジオン化合物がBRL49653、トログリタゾン、ピオグリタゾン、シグリタゾン、WAY-120,744、エングリタゾン、AD5075およびダーグリタゾンよりなる群から選択される請求項9に記載の方法。

11. 該宿主にインスリン、インスリン誘導体、インスリン分泌促進物質、インスリン増感剤またはインスリン模造物の製薬学的に有効な量を含む組成物を投与する工程をさらに含む請求項1に記載の方法。

12. 該組成物がインスリン、インスリン模倣物またはインスリン増感剤の製薬学的に有効な量をさらに含む請求項3に記載の方法。

13. (a) RXRアゴニストの製薬学的に有効な量；および

(b) 製薬学的に許容し得る担体

を含むNIDDMの治療に適した医薬組成物。

14. PPAR γ アゴニストの製薬学的に有効な量をさらに含む請求項13に

記載の組成物。

15. 該RXRアゴニストがLG100268である請求項13に記載の組成物。

16. 該RXRアゴニストがLGD1069である請求項13に記載の組成物。

17. 該RXRアゴニストが9-シスレチノイン酸である請求項13に記載の組成物。

18. 該PPAR γ アゴニストがチアゾリジンジオン化合物である請求項14に記載の組成物。

19. 該チアゾリジンジオン化合物が、BRL49653、トログリタゾン、ピオグリタゾン、シグリタゾン、WAY-120,744、エングリタゾン、AD5075およびダーグリタゾンよりなる群から選択される請求項18に記載の組成物。

20. インスリン、インスリン誘導体、インスリン分泌促進物質、インスリン増感剤またはインスリン模倣物の製薬学的に有効な量をさらに含む請求項14に記載の組成物。

21. 該組織にRXRアゴニストの製薬学的に有効な量を含む組成物を投与する工程を含む、脂肪組織または筋肉組織に取り込まれるグルコースを増加させる方法。

22. 該組織にPPAR γ アゴニストの製薬学的に有効な量を含む組成物を投与する工程をさらに含む請求項21に記載の方法。

23. 該組成物がPPAR γ アゴニストの製薬学的に有効な量をさらに含む請求項21に記載の方法。

24. 該RXRアゴニストがRXR特異的アゴニストである請求項21に記載の方法。

25. 該RXRアゴニストがLG100268である請求項24に記載の方法。

26. R X R アゴニストが LGD 1069 である請求項 24 に記載の方法。

27. 該 R X R アゴニストがまたレチノイン酸受容体を活性化する請求項 21 に記載の方法。

28. 該 R X R アゴニストが 9-シスレチノイン酸である請求項 27 に記載の方法。

29. 該 P P A R γ アゴニストがチアオゾリジンジオン化合物である請求項 22 に記載の方法。

30. 該チアオゾリジンジオン化合物が BRL 49653、トログリタゾン、ピオグリタゾン、シグリタゾン、WAY-120, 744、エングリタゾン、AD 5075 およびダーグリタゾンよりなる群から選択される請求項 29 に記載の方法。

31. 該組織にインスリン、インスリン誘導体、インスリン分泌促進物質、インスリン増感剤またはインスリン模倣物の製薬学的に有効な量を含む組成物を投与する工程をさらに含む請求項 21 に記載の方法。

32. 該組成物がインスリン、インスリン模倣物またはインスリン増感剤の製薬学的に有効な量をさらに含む請求項 23 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

R X R アゴニストを用いた N I D D M の治療

発明の分野

本発明は糖尿病および関連徴候を治療するための方法および製薬学的化合物に関する。

発明の背景

インスリン非依存性糖尿病 (N I D D M、II型糖尿病) はインスリン分泌およびインスリン作用の異常によって特徴付けられる。N I D D M は米国内で糖尿病と診断された約 6 0 0 万人のうちの 9 0 - 9 5 % を構成する。N I D D M は、高血糖で特徴付けられ、末梢組織 (骨格筋および脂肪組織) におけるインスリン耐性の結果、インスリンで刺激されたグルコースの取込み/利用が鈍化され、肝臓においてはインスリンによるグルコース産生の抑圧が不十分である。インスリン作用におけるこれらの障害は血中グルコースの急激な上昇およびグルコース不寛容 (intolerance) の発達において重要な役割を果たしている。

食事および運動が N I D D M 患者の第 1 段階療法である。N I D D M 患者はまた、血中グルコースレベルを制御する経口低血糖剤を服用する。最も広範囲に使用されている低血糖剤は、多様なインスリン製剤およびスルホニル剤である。これらの治療法の主要な欠点は、高インスリン血症のための潜在的に生命を脅かす低血糖症の発生である。

これらの治療法で起こり得る高インスリン血症はまた、糖尿病の主要死因である心臓血管疾患の危険の上昇にも関する。それゆえ、循環インスリン濃度を増加させない抗糖尿病剤の存在が必要である。

化合物の新規のクラスであるチアゾリジンジオン (thiazolidinedione) は、インスリン分泌を促進することよりむしろインスリン作用を増加させることによって、抗高血糖作用を遂げると示されている。チアゾリジンジオンは、非常に高投与量でさえも低血糖状態を引き起こさずにインスリン耐性を改善し、および血漿グルコースおよびインスリン (上昇されたところでさえ) を正常化する。チアゾリジンジオンインスリン増感剤、例えば、シグリタゾン (ciglitazone) 、エン

グリタゾン (englitazone)、ピオグリタゾン (pioglitazone)、BRL 49653 (5-[4-[2-(メチル-2-ピリジニルアミノ)エトキシ]フェニル]メチル)-2,4-チアゾリジンジオン)、およびトログリタゾン (troglitazone) は、肝臓グルコース産生のインスリン媒介抑制およびインスリン刺激グルコースの取込み、および脂肪組織による利用を増強する。チアゾリジンジオンはまた、インスリン応答性を増加させるのに貢献するグルコーストランスポーター (例えば Glut 4) の発現を変化させる。

発明の概要

発明者らは、RXRアゴニストがチオベンゾリジンジオン化合物の抗糖尿病効果を模倣または増強することを見出した。RXRアゴニストは、RXR/PPAR γ ヘテロダイマーの転写活性を活性化し、インスリン刺激性グルコース取込みを増加させ、トリグリセリドのレベルを低下させ、インスリンのレベルを抑圧し、およびHDLコレステロールのレベルを上昇させる。2つのRXRアゴニストはグルコース、トリグリセリドおよびインスリンレベルをNIDDMの2つの確立された動物モデル、すなわちob/obおよびdb/dbマウスにおいて低下させると示されている。それゆえ、RXRアゴニストはNIDDMの治療および関連兆候におけるインスリン増感剤またはインスリン模倣物 (mimetic) として使用することができる。

さらに、RXRアゴニストおよびPPAR γ アゴニスト、例えばチアゾリジンジオンなどの組合せは、PPAR γ の脂肪細胞化および抗糖尿病効果を増強するようRXR/PPAR γ ヘテロダイマーの相乗活性化を達成する。db/dbマウスにおいて、RXRアゴニストおよびPPAR γ アゴニストの組合せは、個々の化合物が行うより多くグルコースのレベルを低下させることを示した。

それゆえ、本発明は以下に限るものではないが、RXRアゴニストを含むRXR/PPAR γ のアクチベーターの製薬学的に有効な量を含む組成物を宿主に投与することによって、NIDDMを有する宿主またはインスリン耐性糖尿病を有する宿主を治療するための方法および組成物に関する。該宿主はヒト患者またはヒトNIDDMの動物モデルであってよい。本発明の組成物は宿主内のNIDDM

Mの1またはそれ以上の兆候を治療、改善または妨害するように適合させる。好ましい薬剤は非常に効能がありかつ低い毒性を選択しているものである。この点において、当業者は本発明のRXRアゴニスト含有化合物および組成物で治療することができる代謝疾患の例として、NIDDMを認識するであろう。本発明の化合物および組成物で治療可能である代謝疾患の他の例には、以下に限るものではないが、肥満および甲状腺ホルモン異常が含まれる。

「製薬学的に有効な量」とは、NIDDMに対する治療上適切な効果を有している製薬学的化合物または組成物の量を意図する。治療上適切な効果は患者におけるNIDDMの1またはそれ以上の兆候をある程度緩和するが、または例えば、循環しているインスリンに対する細胞応答の感受性を増加させ、以下に限られるものではないが、高血糖症、高インスリン血症および高トリグリセリド血症を含むNIDDMの1またはそれ以上の臨床兆候を治療、低減または妨害することなどのNIDDM関連または原因の1またはそれ以上の生理学的または生化学的媒介変数を部分的または完全に正常状態に戻す。好ましい態様において、化合物または組成物の製薬学的に有効な量は脂肪組織または筋肉組織によるグルコースの取込みを増加させる量を意図する。別の好ましい態様において、化合物または組成物の製薬学的に有効な量とは、脂肪組織によるトリグリセリドの取込みを増加させる量を意図する。

「RXR/PPAR γ ヘテロダイマーのアクチベーター」とは、RXR/PPAR γ ヘテロダイマーと組み合わせると該ヘテロダイマーの転写調節作用を増加させ、以下に限るものではないが、米国特許第4,981,784号、5,071,773号、5,298,429号、5,506,102号、WO89/05355号、WO91/06677号、WO92/05447号、WO93/11235号、WO95/18380号、PCT/US93/04399号、PCT/US94/03795号およびカナダ特許第2,034,220号など、参照のため本明細書に包含する）において記載または開示されている「同時トランスフェクション」または「シーストランス」アッセイにおいて知られているアッセイによって測定される化合物または組成物を意図する。それには、以下に解説されるものではないが

いが、RXR、PPARまたはその両方を含む。

「RXRアゴニスト」は、RXRホモダイマーまたはヘテロダイマーと組み合わせるとRXRの転写調節活性を増加させ、以下に限るものではないが、米国特許第4,981,784号、5,071,773号、5,298,429号、5,506,102号、WO89/05355号、WO91/06677号、WO92/05447号、WO93/11235号、WO95/18380号、PCT/US93/04399号、PCT/US94/03795号およびカナダ特許第2,034,220号など（参照のため本明細書に包含する）に記載または開示されている「同時トランスフェクション」または「シスートランス」アッセイを含む（これらに限るものではない）当業者に公知のアッセイによって測定される化合物または組成物を意図する。また、それにはこれらに限るものではないが、RAR（すなわちRXR特異的アゴニスト）を超えて好ましくRXRを活性化する化合物およびRXRおよびRAR（すなわち全アゴニスト）両者を活性化する化合物を含む。また、ある細胞環境内でRXRを活性化するが、他の細胞環境においては活性化しない（すなわち部分的アゴニスト）化合物を含む。RXRアゴニスト活性を有する以下の文献、特許特許出願に開示または記載されている化合物は、参照のため本明細書に包含する：米国特許第5,399,586号、5,466,861号、WO96/05165号、PCT/US95/16842号、PCT/US95/16695号、PCT/US93/10094号、WO94/15901号、PCT/US92/11214号、WO93/11755号、PCT/US93/10166号、PCT/US93/10204号、WO94/15902号、PCT/US93/03944号、WO93/21146号暫定的な（provisional）出願60,004,897号および60,009,884号、ベーム（Boehm）ら、J. Med. Chem. 38（16）：3146-3155、1994、ベームら、J. Med. Chem. 37（18）：2930-2941、1994、アントラス（Antras）ら、J. Biol. Chem. 266：1157-1161（1991）、サラザルーオリボ（Salazar-Olivo）ら、Biochem. Biophys. Res. Commun. 204：157-263（1994）およびサファ

ノバ (Safanova)、Mol. Cell. Endocrin. 104 : 201-211 (1994)。RXR特異的アゴニストは、以下に限るものではないが、LG100268 (すなわち2-[1-(3,5,5,8,8-ペンタメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-2-ナフチル)-シクロプロピル]-ピリジン-5-カルボン酸) およびLGD1069 (すなわち、4-[(3,5,5,8,8-ペンタメチル-5,6,7,8-テトラヒドロ-2-ナフチル)-2-カルボニル]-安息香酸) および類似体、誘導体および製薬学的に許容し得るその塩を含む。LG100268およびLGD1069の構造および合成は、ベームら、J. Med. Chem. 38 (16) : 3146-3155、1994 (参照のため本明細書に包含する) に開示されている。全アゴニストには、以下に限られるものではないが、ALRT1057 (すなわち9-シスレチノイン酸) および類似体、誘導体および製薬学的に許容し得るその塩を含む。

好ましい態様において、医薬組成物はまたPPAR γ アゴニストの製薬学的に有効な量を含む。かわりに、PPAR γ アゴニストの製薬学的に有効な量を含む第2組成物を別個に宿主に投与する。さらに好ましい態様において、RXRおよびPPAR γ の両方のアゴニスト活性を有する化合物を使用する。

「PPAR γ アゴニスト」は、米国特許第4,981,784号および第5,071,773号およびレーマン (Lehman) ら、J. Biol. Chem. 270 : 12953-12956 (1995) (参照のため本明細書に包含する) に記載または開示されている「同時トランスフェクション」または「シストランス」アッセイを含む当業者に公知のアッセイによって測定される化合物または組成物を意図する。好ましいPPAR γ アゴニストは以下に限られるものではないが、BRL49653、トログリタゾン、ピオグリタゾン、シグリタゾン、WAY-120,744、エングリタゾン、AD5075、ダーグリタゾンおよび類似体、誘導体および製薬学的に許容し得るその塩を含む。トントネズ (Tontonez) ら、Genes & Develop. 8 : 1224-1234 (1994)、トントネズら、Cell 79 : 1147-1156 (1994)、レーメンら、J. Biol. Chem. 270 (22) : 1-4、1995、アムリ (Amri) ら、J. Lipid Res. 32 :

1149-1456 (1991)、アムリら、J. Lipid Res. 32: 1457-1463 (1991) およびグリマルディ (Grimaldi) ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10930-10934 (1992) を参照のため本明細書に包含する。

さらに好ましい態様において、該医薬組成物はまた、製薬学的に有効なインスリン、インスリン誘導体、インスリン分泌促進物質、インスリン増感剤またはインスリン模倣物をも含む。別法として、製薬学的に有効な量のインスリン、インスリン誘導体、インスリン分泌促進物質、インスリン増感剤またはインスリン模倣物を含む組成物を別個に宿主に投与する。

活性成分の製薬学的に有効な量を含む組成物は、宿主に経口または全身投与することができる。好ましい態様において、該組成物は経口投与される。

別の局面において、本発明はRXRアゴニストの製薬学的に有効な量を含むNIDDMを治療するための医薬組成物を特徴付ける；NIDDMを有する宿主に適合させた製薬学的に許容し得る担体を含む。好ましい態様において、該医薬組成物はまた、製薬学的に有効な量のインスリン、インスリン誘導体、インスリン誘導体、インスリン分泌促進物質、インスリン増感剤、インスリン模倣物またはPPAR γ アゴニストをも含む。

好ましい態様において、該組成物はNIDDMの治療または高血糖症、高インスリン血症または高トリグリセリド血症を治療するため米国におけるFDA（外国における同等の調節機関）によって認可されており、該効果に関してラベルは叙述している容器内に収まらない。そのような容器には宿主に活性成分の治療上有効な量を提供した。

別の局面において、本発明はNIDDMを治療するのに有用である化合物の候補をスクリーニングするための方法の特徴付ける。これらの方法はRXR/PPAR γ ヘテロダイマーと組み合わせると、該ヘテロダイマーの転写調節活性を増加させ、以下に限るものではないが、米国特許第4,981,784号、5,071,773号、5,298,429号、5,506,102号、WO89/05355号、WO91/06677号、WO92/05447号、WO93/112

35号、WO95/18380号、PCT/US93/04399号、PCT/US94/03795号およびカナダ特許第2,034,220号など（参照のため本明細書に包含する）に記載または開示されている「同時トランスフェクション」または「シストランス」アッセイを含む当業者に公知のアッセイによって測定される化合物または組成物を選択する。1例として、潜在的なRXRアゴニストなどの候補化合物は脂肪細胞または前脂肪細胞に投与される。細胞内の脂質のレベルを計測し、ついで候補化合物による処置後の脂質の蓄積量の増加は候補化合物がNIDDMの治療に有用であることを示している。好ましい態様において、脂質のレベルはオイルレッドO染色または細胞内のトリグリセリドのレベルの検出によって測定される。

別の実施例において、可能性のあるRXRアゴニストなどの候補化合物を脂肪細胞または前脂肪細胞に投与し、ついで脂肪細胞特異的遺伝子（例えばリポタンパク質リパーゼ遺伝子またはPPAR γ 遺伝子）の転写レベルを測定する。候補化合物での処理後の脂肪細胞特異的遺伝子の転写の増加は、該候補化合物がNIDDMの治療に有用であることを示唆している。

さらに別の例において、可能性のあるRXRアゴニストなどの候補化合物は脂肪細胞または前脂肪細胞に投与し、ついでグルコースの取込みのレベルを測定する。候補化合物での処理後のグルコースの取込みの増加は、該候補化合物がNIDDMの治療に有用であることを示唆している。別法として、候補化合物およびインスリンの両者を細胞に投与し、ついで該グルコース取込みのレベルをインスリン単独での処理をした同じ細胞でのレベルと比較する。候補化合物およびインスリンにより処理された細胞内のグルコース取込みの一層高いレベルは該候補化合物がインスリン増感剤であり、NIDDMの治療に有用であることを示唆する。

本発明の他の特徴および利点は、以下の発明の詳細な記載および請求の範囲から明らかであるであろう。

図面の簡単な説明

図1aは、RXRアゴニスト（LG100268）、PPAR γ アゴニスト（チアゾリジンジオン化合物BRL49653）、およびインスリンの多様な組合

せ

で処理した3T3-L1前脂肪細胞中のトリグリセリドのレベルによって測定されるように3T3-L1細胞内での脂肪細胞の分化の程度を示すグラフである。レチノイドおよびBRL49653は1 μ Mで使用した。

図1bは、RXRアゴニスト(LGD1069)、PPAR γ アゴニスト(チアゾリジンジオン化合物BRL49653)、およびインスリンの多様な組合せで処理した3T3-L1前脂肪細胞中のトリグリセリドのレベルによって測定されるように3T3-L1細胞内での脂肪細胞の分化の程度を示すグラフである。レチノイドおよびBRL49653は1 μ Mで使用した。

図2aは、RXRアゴニスト(LG100268)、PPAR γ アゴニスト(チアゾリジンジオン化合物BRL49653)、およびインスリンの多様な組合せで処理した3T3-L1細胞中のLPL mRNAのレベルを示すグラフである。レチノイドおよびBRL49653は1 μ Mで使用した。

図2bは、RXRアゴニスト(LG100268)、PPAR γ アゴニスト(チアゾリジンジオン化合物BRL49653)、およびインスリンの多様な組合せで処理した3T3-L1細胞中のPPAR γ mRNAのレベルを示すグラフである。レチノイドおよびBRL49653は1 μ Mで使用した。

図3は、それぞれLG100268、BRL49653およびLG100268とBRL49653の組合せで処理したdb/dbマウス中のグルコースのレベルを示すグラフである。

図4は、それぞれLG100268、BRL49653およびLG100268とBRL49653の組合せで処理したdb/dbマウス中のトリグリセリドのレベルを示すグラフである。

図5は、それぞれLG100268、BRL49653およびLG100268とBRL49653の組合せで処理したdb/dbマウス中のHDLコレステロールのレベルを示すグラフである。

図6は、それぞれLGD1069、LG100268およびBRL49653で処理したob/obマウス中のトリグリセリドのレベルを示すグラフである。

図7は、それぞれLGD1069、LG100268およびBRL49653

で処理したob/obマウス中のグルコースのレベルを示すグラフである。

図8は、それぞれLGD1069、LG100268およびBRL49653で処理したob/obマウス中のインスリンのレベルを示すグラフである。

発明の詳細な記載

TZDはPPAR γ により抗糖尿病および脂肪細胞化の効果を活性化する

チアゾリジンジオンは糖尿病および肥満の動物モデルにおけるグルコースおよび脂質のレベルを有意に低減させるインスリン増感剤である（キーズ（Kees）ら、J. Medicinal Chem. 38（4）：617-628、1995；ウィルソン（Wilson）ら、J. Medicinal Chem. 39（3）：665-668、1996；ヤング（Young）ら、Diabetes 44：1087-1092、1995）。チアゾリジンジオンは、インスリン放出を刺激せずにグルコースの利用を改善する。

例えば、肥満マウスにBRL49653を繰り返し投与すると、標的組織のインスリン応答性を高めることによって糖血コントロールを改善する。BRL49653は、インスリン受容体数の増加およびGLUT4の転座を促進することの両者によって、拡張された細胞内プールから細胞表面へのインスリン刺激グルコース輸送をインスリン耐性肥満マウス由来の脂肪細胞中で可能にする。

チアゾリジンジオンはまた、選択的なPPAR γ アゴニストである（レーマンら、J. Biol. Chem. 270（22）：1-4、1995）。PPAR γ の活性化のEC₅₀と高血糖活性の最少有効用量（MED）との比較は有意な相関を明らかにした。イン・ビトロPPAR γ 活性とイン・ビボでのチアゾリジンジオンの抗高血糖活性間の相関は、チアゾリジンジオンの抗糖尿病効果の分子標的としてのPPAR γ を示唆する。

PPAR γ はリガンド活性化転写因子の核受容体スーパーファミリーの一員である。それは脂肪特異的なやり方で発現され、その発現はいくつかの前脂肪細胞細胞株の分化の間に早期に誘発される。繊維芽細胞中のPPAR γ の強制発現は脂肪細胞の分化という結果となる。

インスリン増感活性に加えて、チアゾリジンジオンは顕著な脂肪細胞効果を前

脂肪細胞および間充組織幹細胞に及ぼす（トントノズら、Cell 79 : 1147-1156、1994）。BRL 49653でのCH3/10T1/2の処理は効率よい脂肪細胞の分化となり、その結果はPPAR γ のリガンド媒介活性化が間充組織幹細胞中の脂肪細胞化シグナルカスケードを開始するのに十分である。PPAR γ はチアゾリジンジオンの脂肪細胞化効果の分子標的である。

脂肪細胞化はNIDDMの進行において役割を果たしており、それはバランスを失ったグルコース恒常性だけでなく、循環脂肪の上昇したレベルによって特徴付けられる。脂質のレベルの増加がグルコース処分を邪魔することを示す。

脂肪細胞は、脂質代謝およびエネルギー恒常性における重要な役割を果たす非常に特異化された細胞である。それらの主要な役割は、カロリー過剰の時期にトリグリセリドを蓄え、栄養不足時にその保存物を動員することである。

脂肪細胞の分化は脂肪細胞特異的遺伝子発現における協調的な増加によって特徴付けられる。PPAR γ は脂肪細胞に得意的に発現する。その発現はいくつかの前脂肪細胞細胞株の分化の進行の間の初期に誘発される。繊維芽細胞中のPPAR γ の強制発現は、脂肪細胞の分化という結果となる。

RXRおよびPPAR γ の脂肪細胞への相乗効果

PPAR γ の発現は培養された脂肪細胞株の分化の間の初期に誘発され、脂肪組織中で非常に高いレベルで特異的に発現する。PPAR γ は他の脂肪細胞特異的遺伝子（例えば、脂肪細胞P2遺伝子（aP2遺伝子））の転写を調節することによって脂肪細胞化を調節する。aP2遺伝子は細胞内脂質結合タンパク質をコードし、ついで脂肪細胞中にもっぱら発現する。

aP2遺伝子の5'-フランキング領域からの518bp DNA断片は、培養された細胞およびトランスジェニックマウスの両方において高レベルの脂肪細胞特異的遺伝子発現を指令するエンハンサーとして同定されている。aP2エンハンサー、ARE6およびARE7における1対のエLEMENTは、脂肪細胞由来の核抽出物においてしか検出されないARF6として名付けられた核因子に結合する。ARF6-結合部位は脂肪細胞特異的発現に必要でありかつ十分であり、こ

のことはトランス作用因子ARF 6はa P 2エンハンサーの分化依存および組織特異

的スイッチとして機能することを示唆する（トントノズら、Genes & Development、8：1224-1234、1994）。

ARF 6認識配列はDR-1（1-ヌクレオチドスペーサーを有する反復を指令）として知られる核ホルモン受容体結合部位の1つのタイプに類似する。このモチーフは、RXRとCOUP-TFのヘテロダイマーおよびRXRと該PPARのヘテロダイマーに好んで結合することが示されている。競合物としての多様なHRE配列を用いたDNA移動度遅滞実験（DNA mobility retardation experiment）はARF 6がDR-1部位を好んで認識することを証明した。

ARF 6はRXR α とPPAR γ のヘテロダイマー複合体として同定されている。PPAR γ およびRXR α はイン・ビトロでのARF 6-結合部位上にヘテロダイマーを形成することを示している。一時的なトランスフェクション中のこれらの因子の強制発現は、繊維芽細胞などの非脂肪細胞中の脂肪細胞特異的a P 2エンハンサーを活性化するのに十分である。この活性化はベルオキシソーム増殖因子、脂肪酸および9-シスレチノイン酸によって可能となる。RXR α に対する抗血清は、脂肪細胞核抽出物におけるARF 6活性を特異的に阻害する。

RXR α 発現ベクターおよびPPAR γ 発現ベクターの同時トランスフェクションは、非脂肪細胞におけるa P 2エンハンサーを活性化するための相乗効果を有する。a P 2エンハンサーの最大の活性化はPPAR γ 、RXR α およびそのアゴニストの両者が存在する場合に観察される。

いかなる理論にも縛られず、本出願人はRXRアゴニストは、RXRおよびPPAR γ ヘテロダイマーの相乗効果により組織中のグルコース利用に影響を及ぼすことを提案する。RXR/PPAR γ ヘテロダイマーは、RXRアゴニストまたはRXRアゴニストとPPAR γ アゴニストとの組合せによって活性化される場合、脂肪細胞化を誘発し、グルコースおよびトリグリセリド取込みのレベルを調節する。別にまたはさらに、RXR/PPAR γ ヘテロダイマーはRXRアゴニストまたはRXRアゴニストとPPAR γ アゴニストとの組合せによって活性

化される場合、腫瘍壊死因子- α またはレプチンなどの脂肪組織によって分泌されたシグナル分子を調節し、今度は他の組織においてグルコース代謝を調節する。

チアゾリジンジオンの抗糖尿病効果を模擬または増強するRXRアゴニストの使用

PPAR α 、 β および γ はすべてRXRとヘテロダイマーを形成する。これらのRXR/PPARヘテロダイマーはDNAに結合し、転写活性を調節する。RXRアクチベーターは、PPAR α タンパク質の活性を活性化させるPPAR α アクチベーターと協同する（クリーワー（Kliwer）ら、Nature 358 : 771-774（1992）およびマクハージー（Mukherejee）ら、Steroid Biochem. Molec. Biol. 51 : 157-166（1994））。

本発明において、類似の相乗活性化がPPAR γ アクチベーターといくつかのRXRアクチベーターと共に観察された。

本発明により、RXRアゴニスト（例えば、LGD1069、ALRT1057およびLG100268）は糖尿病の治療に有用であることができる。本発明者らはRXRアゴニストの効果、すなわち、形態上の変化、脂質の蓄積、遺伝子発現および増加したグルコース取込みの調節のための4つの独立したパラメーターを試験した。

2つの前脂肪細胞株をPPAR γ /RXRヘテロダイマー中でのRXR活性化の理論を試験するために使用した。3T3-L1およびC3H/10T1/2細胞はATCCから得て、それらはマウス胚由来である。該細胞は接触を阻害され、ついで細胞質内の大きな脂質小滴を含む脂肪細胞に分化するため誘導され得る。脂肪細胞の分化は、細胞質レッド内の脂質小滴を染色するオイルレッドO染色によって観察され得る。脂肪細胞の分化の程度は、ついで顕微鏡観察によってモニターされることができる。

一層多くの定量アッセイおよび化合物の迅速なスクリーニングのため、96ウェルプレートアッセイを脂肪細胞を分化させることによって産生されたトリグリセリドの量を定量するために開発された。このアッセイにおいて、細胞を96

ーウェルプレート上で一定の密度に達するまで単層として増殖させ、BRL 49653、インスリンおよびレチノイド単独または多様な組合せで処理する。これらの処理は3T3-L1およびC3H/10T1/2細胞の両者において異なる

程度にまで分化を誘導する。ついで、トリグリセリド蓄積のレベルはプレートリーダー中で読み取られることができる酵素発色反応を介して測定されることができる。

脂肪細胞の分化の第3の測定は遺伝子発現の調節を試験することである。PPAR γ とリポタンパク質リパーゼ (LPL) の両方のmRNA発現レベルは脂肪細胞分化の間に調節されることを示されている。ノザンブロット分析を使用して、いかにしてレチノイドが脂肪細胞の分化の標的遺伝子に影響を及ぼすかの分子的側面を詳細に吟味する。PPAR γ 、リポタンパク質リパーゼ (LPL) および β -アクチン (負荷コントロール) mRNAレベルが、細胞がチアゾリジンジオンおよびレチノイドで処理された後にモニターされた。

NIDDMまたはインスリン耐性糖尿病を治療することにおける化合物の利用のための第4のインジケータは、インスリン刺激グルコース取込みを増強する化合物の能力である。標識された2-デオキシグルコース (2-DOG、グルコース類似体) アッセイを、インスリンおよび2-DOG取込みのレベルを測定する候補化合物の存在下で前脂肪細胞株にて行う。

(A) オイルレッドOで染色した3T3-L1細胞における脂質の蓄積のレチノイド調節

表1は、オイルレッドO染色アッセイにより観察されるように脂肪細胞に分化した3T3-L1細胞の存在を示す。BRL 49653およびLG 100268を1 μ Mで使用し、インスリンを0.01 mg/mlで使用した。LG 100268で処理したウェルは細胞質内でより大きくより赤い脂質小滴を有した。

BRL 49653およびLG 100268処理単独は、脂肪細胞に分化する細胞の50%誘発した。これはインスリンの付加で劇的に増加した。BRLと組み合わせたインスリンは、3T3-L1細胞の80%を脂肪細胞に誘発するが、一方インスリンとLG 100268の組合わせは細胞の90%を分化へと誘発した

。BRL 49653がLG100268 (RXRアゴニスト) と組合せて使用した場合、脂肪細胞分化の量はまた、劇的に増加した。他のRXRアゴニストはLG100268の活性を模倣している。例えば、ALRT1057 (全アゴニスト)

またはBRL 49653と組合せたLGD1069 (RXR特異的アゴニスト) の添加は、強力なRXRアゴニストLG100268より少ない程度にもかかわらず分化の量を増加させた。インスリンとBRL 49653およびLGD1069の組合せは3T3-L1細胞に強力な分化効果 (95%) を有した。

(B) 分化した脂肪細胞におけるトリグリセリド含有量のレチノイド調節

脂質の形成のレチノイド調節は、トリグリセリド形成をモニターすることによって定量化された。図1 aおよび1 bはレチノイド (LG100268またはLGD1069) 単独またはチアゾリジンジオンおよびインスリンと組み合わせて処理された3T3-L1細胞中のトリグリセリド蓄積を示す。レチノイドおよびBRL 49653は全実験の組合せに関して1 μ Mで、インスリンは0.01 mg/mlで使用した。

インスリン、BRL 49653およびレチノイドはすべて単独で使用される場合、幾分トリグリセリド蓄積を誘発し、LG100268は最大の反応を与えた。該アッセイにチアゾリジンジオン (BRL 49653) とレチノイド (LGD1069、LG100268) の添加は3T3-L1分化脂肪細胞中でのトリグリセリド蓄積量を増加させた。これは、また、BRL 49653またはLG100268がインスリンと組み合わせて使用した場合に観察される。トリグリセリドの最大の蓄積はLG100268、BRL 49653およびインスリンを伴って治療された細胞において見られる。類似の結果がLGD1069が実験中でLG100268に取って代わる時に観察される。これらの結果はオイルレッドO染色アッセイ中で得られた結果と一致する。

(C) 分化している3T3-L1細胞中でのPPAR γ およびLPL mRNA調節

脂肪細胞特異的遺伝子をノザンブロット分析を介してモニターされた。図2 a

および2bは、BRL49653 ($1\mu\text{M}$)、LG100268 (0.01mg/ml) およびインスリン (0.01mg/ml)、単独でまたは組合せて7日間処理した細胞中のLPL (リポタンパク質リパーゼ) mRNAおよびPPAR γ mRNAの発現パターンを示す。

ノザンブロット分析は、いずれかの化合物単独で処理した細胞中でのLPLおよびPPAR γ mRNA発現の β -アクチンへの標準化した相対的シグナルにおける増加を示した。転写制御がインスリン、BRL49653およびLG100268による処理で起こることを示すこれらの脂肪細胞標的遺伝子のmRNAレベルにおいて3～5倍の増加があった。インスリン、BRL49653およびLG100268の組合せはさらにmRNAのレベルを増強しなかった。

これらのデータは、3T3-L1細胞において、RXRアゴニストがそれ自体またはチアゾリジンジオンまたはインスリンとの組合せにより脂肪細胞の分化を誘発することを示している。RXRアゴニストはチアゾリジンジオンおよびインスリンの活性を増強する。3つの独立した測定が、RXRアゴニストが脂肪細胞の分化の調節におけるRXR/PPAR γ ヘテロダイマーの調節に貢献し、NIDDMの治療に有用であることを支持している。

(D) LG100268は3T3-L1細胞中のインスリン刺激グルコース取込みを増強する

マウス前脂肪細胞株3T3-L1は、グルコース取込み、脂肪細胞化を調べるために広く使用され、チアゾリジンジオンおよび他のPPAR γ アクチベーターの特徴付けにおいて使用されている。インスリン刺激した標識した2-デオキシグルコース (2-DOG、グルコース類似体) の取込みはBRL49653またはLG100268で処理した3T3-L1細胞において観察された。

3T3-L1細胞をBRL40652 ($10\mu\text{M}$) またはLG100268 ($1\mu\text{M}$) で10日間処理した。インスリンを該細胞に 0.01mg/ml の濃度で5日間添加し、その後はインスリンは無添加とした。標識した2-デオキシグルコース取込みアッセイを行った (スザルコブスキ (Szalkowski) ら、J. Endocrin. 136:1474-1481、1995)。取り込まれた標識した2-DO

Gのレベルを総細胞タンパク質の量に標準化した。2-D O G 取込みにおける約5倍の増加がB R L 4 9 6 5 3 単独で処理した3 T 3 - L I 細胞において観察された。L G 1 0 0 2 6 8 単独で処理した3 T 3 - L I 細胞においては2-D O G 取込みにおいて約2倍の増加が観察された。

これらの実験は、R X R アゴニストが公知のインスリン増感剤である、チアゾリジンジオンのように3 T 3 - L I 細胞中でインスリン媒介グルコース取込みを増加させることを示している。R X R アゴニストはN I D D M すなわちインスリン耐性の主要な兆候を処理するために使用されることができることを直接示している。N I D D M の治療に有用な他のR X R アゴニストは、このアッセイを用いて確認することができる。

(E) オイルレッドO染色したC 3 H / 1 0 T 1 / 2 細胞中の脂質蓄積のレチノイド調節

脂肪細胞機能のレチノイド調節をさらに査定するために、本発明者らはC 3 H / 1 0 T 1 / 2 細胞（それらは脂肪細胞または筋肉細胞に分化するように誘発されることができるマウス胚繊維芽細胞／多能性幹細胞である）を調べた。表2はオイルレッドO染色アッセイによって観察されるように、脂肪細胞に分化したC 3 H / 1 0 T 1 / 2 細胞のパーセンテージを示す。実験Aは、B R L 4 9 6 5 3 の存在下で行った。実験BはB R L 4 9 6 5 3 およびインスリンの両方の存在下で行った。A L R T 1 0 5 7 およびL G D 1 0 6 9 を1 μ M で使用し、T T N P B （R A R 選択化合物）を1 0 n M の濃度で使用した。インスリンを0. 0 1 mg / ml で使用した；およびB R L 4 9 6 5 3 を0. 1、1 および1 0 μ M で使用した。C 3 H / 1 0 T 1 / 2 細胞を7日間処理し、細胞をオイルレッドOで染色し、顕微鏡下で観察した。

形態上の変化が、たとえ該細胞が完全に脂肪細胞に分化しなかったとしても、レチノイド単独で処理した場合に観察した。B R L 4 9 6 5 3 単独では脂肪細胞の分化を受ける細胞のせいぜい1 0 % に変化を引き起こした。しかしながら、B R L 4 9 6 5 3 がR X R アゴニスト、L G D 1 0 6 9 またはA L R T 1 0 5 7 と組み合わせて使用された場合、分化の量における多大な増加があり、同様の効果

がBRL 49653がインスリンと組み合わせて使用した場合に見られる。

RXRアゴニストであるTTNPB (RXRを活性化させない) はRXRアゴニストLGD1069およびALRT1057と同様の効果を持たなかった。実際、TTNPBはBRL 49653またはBRL/インスリンによって誘発される分化を阻害した。

上記の実験はチアゾリジンジオン (BRL 49653) 単独がC3H/10T1/2細胞における最少量の分化を誘発する。しかしながら、BRL 49653はLG100268、LGD1069またはALRT1057 (RXRアゴニスト) などのレチノイドと組み合わせて使用される場合、分化は劇的に増加する。これば純粋なRARアゴニストであるTTNPBでは見られない。これらのデータはPPAR γ /RXRヘテロダイマー (脂肪細胞分化プロセスを稼働する) がRXRアゴニストの結合によって活性化および増強され得ることを支持する。RXRアゴニストはグルコースおよびトリグリセリドの取込みのレベルを調節するのに有用である。

NIIDDMの動物モデルにおけるグルコースおよびトリグリセリドのレベルを低下させるRXRアゴニストの使用

(A) db/dbマウスでのイン・ビボ実験

動物：糖尿病C57BLKS/J-m+/+db、82マウス

起源：ジャクソン・ラブ (Jackson Lab)

群番号000642

遺伝子型m+/+db x m+/+db

DOB 6/19/96 \pm 3d、DOA 7/23/96-34日齢

実験日： 8/5/96-8/21/96, 44-63日齢

マウスは耳のパンチコード (#1-82) によって同定され、8群 (A-H) に分けた。各群は1ケージ当たり2-3匹のマウスで4ケージに分けた10匹のマウスからなる。数匹のマウスは肺への液体注入の実験の進行中に失敗して、2群において9匹/群となった。コントロール群Cは12匹のマウスからなる。そのマウスは56%炭酸、26%脂肪および18%タンパク質のカロリー組成にて

3.83 kcal/g を含むペレット化したプリナ・ラブ・食物#5015をマウスに与えた。食物と水は任意に与えた。食物取込みを選択した期間にて測定し、ついで食物消費 g / 100 g マウス / 日として表現した。

実験の日に、午前6時15分から7時までの間の選択された時間間隔でケージから食物を取り除いた。動物の体重を絶食開始2時間後に記録し、3時間の絶食の後に血液サンプルを採取した。血液を尾の先端を切断して流し、ついでヘパリン化したキャピラリーチューブに収集した（約75 μ l 容量）。遠心後、ヘマトクリットをマイクロキャピラリーリーダー（microcapillary reader）にて読み取り、記録し、ついでチューブを壊して、グルコース、トリグリセリドおよびインスリン濃度の分析のための血漿の回収をした。

血液サンプルを0、0、3、7、10日および実験の最終日、13-15日に収集した。0日の血液サンプルの収集後、動物は再度プリナ食物を与えられ、ついで引き続きC群にはコントロール溶液を、A、B、D-Hと名付けられた群には7つの試験溶液のうちの1つで強制飼養した。投与容量は平均0.6 ml / 42 g マウス（0.01429 ml / g）と同量とした。多様な溶液で、当日朝に計測された動物の体重に基づくかまたは前日の体重測定時に得た体重に基づきそれぞれの群に強制飼養した。血漿FFAにおける変化を査定するため、第10日に75 μ l 血液サンプルを加えて、塩基性のヘパリン化したキャピラリーチューブサンプルを収集後、すぐにEDTA-コートし、キャピラリーチューブに回収する。

実験の最終日には、マウスを試験溶液では強制飼養しなかった。最後の強制飼養を最終日の前日、すなわち、13日に屠殺する動物は12日、14日に屠殺する動物は13日に、および15日に屠殺する動物は14日に投与した。最終血液はHDLの評価のための血清を提供するために首を切断することによって収集した。

結果：

図3は、BRL49653およびLG100268が、各々独立にdb/dbマウスにおけるグルコースレベルを低下させたことを示している。さらに、BRL4

9653およびLG100268の組合せを各々の化合物がそれ自体で行ったより多くのレベルを低下させた。BRL49653 (1mg/kg) およびLG100268 (20mg/kg) はコントロールに比較して、第15日までに40%のグルコースのレベルを低下させた。1mg/kgでチアゾリジンジオンBRL49653は類似の効果を示した。ラクチベーターおよびPPARアクチベーターの組合せ

は多大な効果を示し、グルコースレベルをほぼ50%低下に導いた。その組合せの効果は迅速であり、グルコースレベルは実験の第1日までに減少させ、4日までに安定状態に達した。これはグルコース恒常性の安定なレベルの迅速な再設定を示唆する。それゆえ、RXRアクチベーターはPPAR γ アクチベーターの効果を増強し、また、逆もまた同様である。

図4は、RXRアクチベーターが、db/dbマウスにおけるトリグリセリドのレベルを低下させることを示す。LG100268 (20mg/kg) は実験の第15日までに40%トリグリセリドのレベルを低下させた。BRL49653 (1mg/kg) は同様の効果を示した。これらの2つの化合物の組合せはさらによく機能した。

図5は、RXRアクチベーターモジュレーターが、db/dbマウスにおけるHDLコレステロールのレベルを増加させたことを示す。LG100268 (20mg/kg) は、db/dbマウス注のコントロールに比較して、HDLコレステロールレベル (20%) を増加させた。BRL49653は同様のレベルでの増加を引き起こした。これらの2つの化合物の組合せは一層多く増加したことを示す。HDL-Cはベーリンガー・マンハイム (Boehringer-Mannheim) (カタログ番号543004および427578) から得たキットを用いて沈降法により測定した。

(B) ob/obマウスによるイン・ビボ実験

動物：肥満C57BL/6J-Lep^{ob(4)}、121マウス

起源：ジャクソン・ラブ、ストック番号000632

群番号000632

遺伝子型 Lep^{ob(4)} / + x Lep^{ob(4)} / +

DOB 5/22/96 \pm 3 d、DOA 7/2/41 日齢

実験日： 7/21/96-8/2/96-49-70 日齢

マウスは耳のパンチコード（#1-121）によって同定され、12群に分けた。各群は10匹のマウスからなる（1匹のマウスを実験前に屠殺した。というのは、虫歯は最初の体重減少となるからである。先の実験のように、各群のマウス

は4ケージに飼われ（1ケージ当たり2-3匹）、任意に水およびプリナ・ラブ・食物#505\15を与えられた。

実験の日に、午前6時15分から7時までの間の選択された時間間隔でケージから食物を取り除いた。動物の体重を絶食開始2時間後に記録し、3時間の絶食の後に血液サンプルを採取した。血液を尾の先端を切断して流し、ついでヘパリン化したキャピラリーチューブに収集した（約75 μ l 容量）。遠心後、ヘマトクリットをマイクロキャピラリーリーダーにて読み取り、記録し、ついでチューブを壊してグルコース、トリグリセリドおよびインスリン濃度の分析のための血漿を回収した。

血液サンプルを0、0、3、6、8、10、14 \pm 1日および実験の最終日、15、1または17日に収集した。FFAサンプルを非ヘパリン化したEDTAコートしたチューブにおける第2の75 μ lの血液サンプルを流すことによって収集した。このチューブをヘパリン化したチューブの回収のすぐ後で回収した。

H群の動物は第0日に毎日コントロール強制飼養溶液（0.6 mg/42 g）を投与開始し、最終日の前日に終了する。11試験溶液をA-G、I-Lと名付けられた群の動物に投与した。すべての強制飼養溶液はマウスが血液サンプルのために断食している日に、再度食料を与えた後に投与する。

結果：

図6はRXRモジュレーターがob/obマウス中のトリグリセリドのレベルを低下させたことを示す。RXRアクチベーターLGD1069（30 mg/kg）およびLG100268（20 mg/kg）は実験の第14日目においてそれぞれ34%と60%トリグリセリドのレベルを低下させた。BRL49653はまた、トリ

グリセリドのレベルを低下することができたが、LG100268ほど有効ではなかった。

図7はRXRモジュレーターがob/obマウス中のグルコースのレベルを低下させたことを示す。RXRアクチベーターLGD1069 (30mg/kg) およびLG100268 (20mg/kg) は、コントロールに比較してグルコースレベルのほとんど50%を低下させた。グルコースのレベルは実験の第14日目までにはほとんど正常血糖レベルにまで低下した。BRL49653 (0.4mg/kg) は類似の効果を示した。

図8はRXRモジュレーター、LGD1069 (30mg/kg) およびLG100268 (20mg/kg) がob/obマウス中のインスリンのレベルを低下させたことを示す。LG100268は、実験の第14日目までに66%のインスリンレベルを低下させた。LGD1069は効果の低下を示した。該化合物の非常に迅速な効果が、第1日のインスリンレベルなどが滴下を開始以来、見られた。

製薬学的製剤および投与の様式

関心のある障害または状態に影響を及ぼす特定の化合物は、それ自体または適当な担体または賦形剤と混合される医薬組成物中にて患者に投与されることができる。関心のある障害を示す患者の処置において、これらのような治療上有効な量の薬剤の量が投与される。治療上有効な用量は、患者内の病状の改善または生存期間の延長という結果となる化合物の量をいう。

該化合物は、また、製薬学的に許容し得る塩として調製することができる。製薬学的に許容し得る塩の例には、塩酸塩、硫酸塩、リン酸塩、スルファミン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、酪酸塩、酒石酸塩、メタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、シクロヘキススルファミン酸塩およびキナ酸塩などの酸付加塩を含む（例えば、PCT/US92/03736参照）。そのような塩は塩酸、硫酸、リン酸、スルファミン酸、酢酸、クエン酸、酪酸、酒石酸、マロン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、シクロヘキシルスルファミン酸およびキナ酸などの酸を用いて用いて得ることができる。これらの塩は標準方法を用いて調製することが

できる。例えば、該化合物のフリーの塩基形態は、適当な酸を含む水または水—アルコール溶液などの適当な溶媒中に最初は溶かす。その塩をついで、溶液を蒸発させることによって単離する。別の実施例においては、その塩を有機溶媒中でフリーの塩基と酸を反応させることによって調製する。

担体または賦形剤を例えば、溶解度を増加させるために該化合物の投与をしやすくするなど使用することができる。担体および賦形剤の例には、炭酸カルシウム、

リン酸カルシウム、多様な糖または多様な型のスターチ、セルロース誘導体、ゼラチン、植物油、ポリエチレングリコールおよび生理学的に調和する溶媒を含む。

さらに、試験された分子はRXR／PPAR γ ヘテロダイマーに作用することができ、したがって、本発明中において分子を選択することができる構造の特徴を決定するために使用することができる。当業者は、参照のため本明細書に包含するPCT公開番号第94／18959において開示される技術を使用して、規範分子から薬剤をいかに設計するかを知るであろう。

そのような化合物の毒性および治療剤の効果は例えば、LD₅₀（その集団の50％が死に致る用量）およびED₅₀（その集団の50％において治療上の効果がある用量）を決定するため、細胞培養または実験動物中の標準製薬学的手続によって決定することができる。毒性効果および治療効果の間の用量の割合は治療上の指標であり、LD₅₀／ED₅₀の割合として発現することができる。多大な治療剤の指標を示す化合物が好ましい。これらの細胞培養アッセイおよび動物実験から得られたデータを、ヒトにおける使用のための用量の範囲をまとめるのに使用することができる。そのような化合物の用量は、毒性がほとんどないかまたは全くなくED₅₀を含む循環濃度の範囲内に好ましくは存在する。該用量は、使用される投与形態および利用する投与経路に依存して、この範囲内において変化することができる。血漿におけるレベルを例えばHPLCによって測定することができる。

まさにその製剤、投与の形態および用量を、個々の医師により、患者の状態の

点からみて選択することができる（例えば、フィンガル（Fingal）ら、ザ・ファーマコロジカル・ベース・オブ・セラピューティクス（The Pharmacological Basis of Therapeutics）、1975、第1章、第1ページ）。主治医はいかにおよびいつ毒性のためまたは組織機能不全のために投与を終了、阻止または適合させるかを知るであろうことを注意すべきである。逆に、医師はまた、臨床的応答が適当でない（毒性を排除する）かもしれない一層高いレベルに治療を適合させることを知るであろう。関心のある障害の管理において投与された用量の大きさは、治療されるべき状態の重篤度および投与経路により変化するであろう。

病状の重篤度は、例えば、部分的には標準的な予防評価法によって評価することができる。さらに、投与用量および投与頻度は、また、患者個体の年齢、体重および応答により変化するであろう。上記で議論された比較可能なプログラムは、獣医学において使用することができる。

治療されるべき特異的な状態に依存して、そのような薬剤は製剤され、全身または局所的に投与されることができる。製剤および投与のための技術はレミントンズ・ファーマシューティカル・サイエンシズ（Remington's Pharmaceutical Sciences）、18版、マック・パブリッシング・コ（Mack Publishing Co.）、イーストン、フィラデルフィア（1990）において見られる。適当な経路は、わずかししか挙げられないが、経口、直腸、皮膚、経膈、経粘膜または、腸；筋肉内、皮下、脊髄内注入ならびに髄腔内、直接脳室内、静脈内、腹腔内、鼻腔内または眼内注入などの非経口運搬を含む。

注入に関して、本発明の薬剤を水溶液、好ましくはハンクス溶液、リンガー溶液または生理食塩緩衝液などの生理学的に調和するバッファー中で製剤することができる。そのような経粘膜投与に関して、透過すべき障害に適当な貫通刺胞を製剤中で使用する。そのような貫通刺胞は一般的に当該技術分野において公知である。

全身投与のために適当な投与においての本発明の実施に関して、本明細書に開示の化合物を製剤化するための製薬学的に許容し得る担体の使用は、本発明の範

囲内である。適当な担体の選択と適当な製造実施とともに、本発明は、特に、溶液として製剤化されたものは、静脈注射によるなどのように非経口投与して良い。該化合物は経口投与に適当な投与量において当業者に良く知られた製薬学的に許容し得る担体を用いて容易に製剤化することができる。そのような担体により、本発明は錠剤、ピル、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液などとして、治療されるべき患者による経口摂取のために製剤化されることができる。

細胞内に投与されるよう意図される薬剤は当業者に良く知られた方法を用いて投与されることができる。例えば、そのような薬剤はリポソームにカプセル化されることができ、ついで上記のように投与されることができる。リポソームは球状の脂質二重層である。リポソーム製剤の時に水溶液中に存在するすべての分子は水性の内部にとりこまれる。リポソーム内容物は、リポソームが細胞膜と融合するため外部微小環境 (external microenvironment) から保護され、細胞質に効果的に運搬される。さらに、その疎水性のため、小有機分子が直接細胞内に投与されることができる。

本発明における使用に適当な医薬組成物は、活性成分が意図する目的を達成する有効量において含まれる組成物を含む。有効量の決定は特に、本明細書に提供された詳細の開示に照らすと、当業者の能力内に十分ある。活性成分に加えて、これらの医薬組成物は製薬上使用することができる準備に活性化合物のプロセッシングを促進させる賦形剤および補助剤 (auxiliaries) を含む適当な製薬学的に許容し得る担体を含むことができる。経口投与のために製剤化された調製物は、錠剤、糖衣剤 (dragee)、カプセルまたは溶液の形態であってよい。本発明の医薬組成物は例えば、従来の混合、溶解、粒状化、糖衣製造 (dragee-making)、浮揚化 (levitating)、エマルジョン化、カプセル化、エントラッピング (entrapping)、または親液化 (lyophilize) 法を用いてそれ自身が公知である方法において製造されることができる。

非経口投与のための医薬製剤は水溶性形態の活性成分水溶液を含む。さらに、活性化合物の懸濁液は適当な油性注入懸濁液として調製することができる。適当

な親脂質(lipophilic)溶媒またはビヒクルはゴマ油などの脂肪酸、またはオレイン酸エチルまたはトリグリセリドまたはリポソームなどの合成脂肪酸エステルを含む。水溶性注入懸濁液はカルボキシメチルセルロース、ソルビトールまたはデキストランなどの懸濁液の粘性を増加させる物質を含むことができる。時に、懸濁液はまた安定な安定化剤または高濃度の調製を可能にする化合物の容器度を高める薬剤をも含む。

経口使用のための製薬学的調製物は固体賦形剤と活性化合物とを組合せ、時に得た混合物をすり碎き、および顆粒混合物をプロセッシングすることによって、所望ならば適当な補助剤を加えた後に錠剤または糖衣コアを得ることができる。適当な賦形剤は、特に、ラクトース、スクロース、マンニトールまたはソルビトールを含む糖などの混ぜ物；例えば、コーンスターチ、小麦スターチ、ライススターチ、ポテトスターチ、ゼラチン、ゴム、トラガカント、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、および／またはポリビニルピロリドン(PVP)などのセルロース調製物を含む。

所望ならば、架橋したポリビニルピロリドン、アガーまたはアルギン酸またはアルギン酸ナトリウムなどのその塩など崩壊剤を加えることができる。

糖衣コアは適当なコーティング剤とともに提供される。この目的に関して、濃縮した糖溶液を使用することができ、それはアラビアゴム、タルク、ポリボニルピロリドン、カーボポル・ゲル(carbopol gel)、ポリエチレングリコールおよび／またはチタンジオキシド、ラッカー溶液および適当な有機溶媒または溶媒混合物を含むことができる。活性化合物の異なる組合せの同定またはそれを特徴付けるために、錠剤または糖衣コーティングに染料または色素を添加することができる。

経口使用できる製薬学的調製物には、ゼラチンからできたプッシュフィットカプセル(push-fit)ならびに軟カプセル、ゼラチンで作られた密封カプセル、グリセロールまたはソルビトールなどのプラスチックサイザー(plasticizer)を含む。プッシュフィットカプセルはラクトースなどの充填剤、スターチなどの結合剤および／またはタルクまたはステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤、および時

に安定剤などと混合した活性成分を含むことができる。軟カプセルにおいて、活性化合物は、脂肪酸、液体パラフィンまたは液体ポリエチレングリコールなどの適当な液体に溶解または懸濁してよい。さらに、安定化剤を加えることができる。リポソームはカプセル化した運搬のために使用することができる。

ベーム（Boehm）ら、WO 94／15902に開示または記載される医薬製剤は参照のために本明細書に包含する。

参照されたすべての出版物（各出版物中に挙げられる核酸配列およびアミノ酸配列を含む）は、参照のために本明細書に包含する。上記の出版物中に開示および参照されたすべての化合物は、参照のため本明細書に包含され、上記出版物によって引用されている記事に開示および参照されている化合物を含む。

本発明の他の態様は以下の請求の範囲において開示する。

表1：脂肪細胞への3T3-L1分化におけるオイルレッドO染色

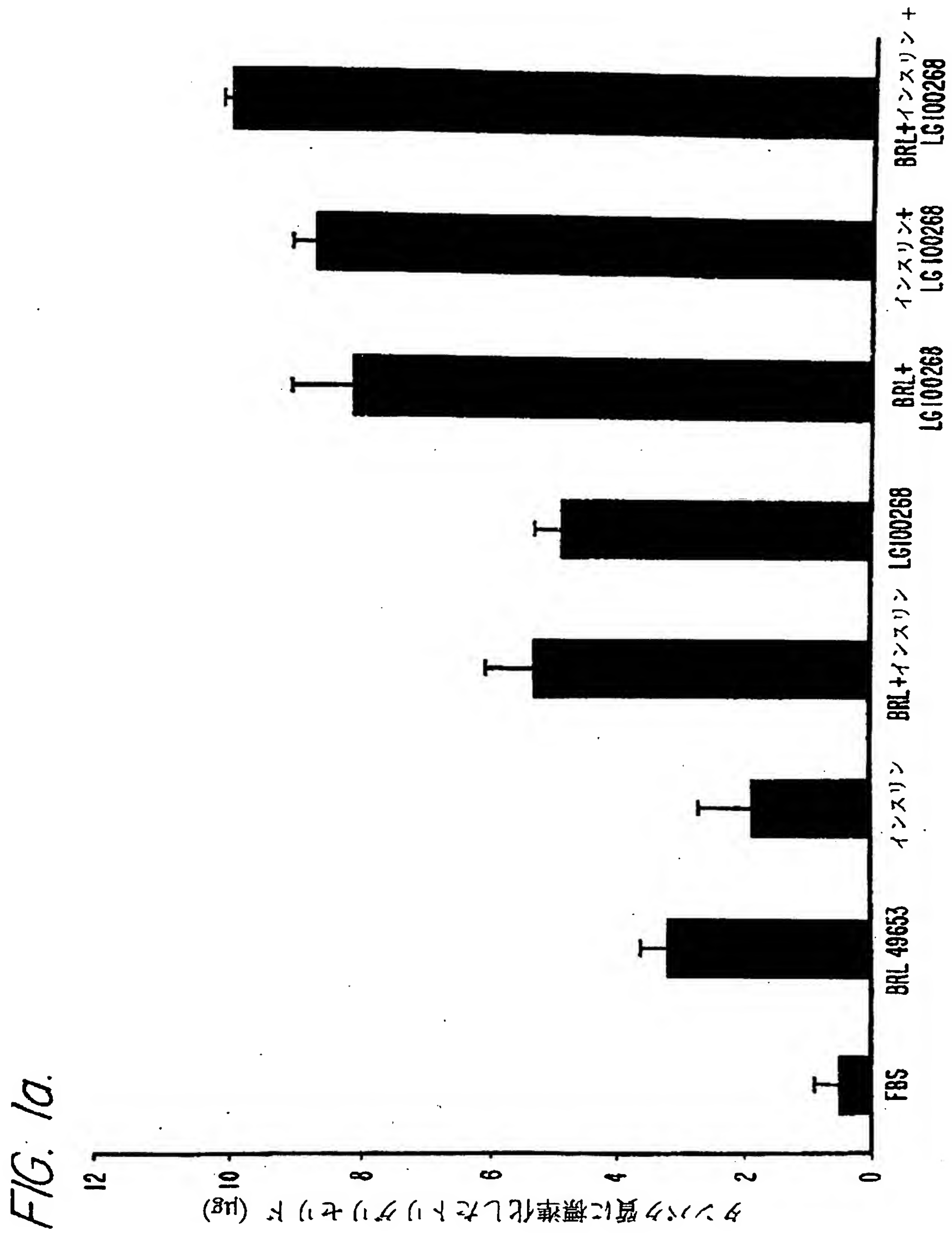
処理	分化した細胞のパーセント
コントロール	0.1
BRL 49653	50
インスリン	20
LG 100268	50
BRL+インスリン	80
BRL+LG 100268	90
LG 100268+インスリン	90

表2：C3H/10T1/2細胞中の脂肪細胞分化のレチノイド調節

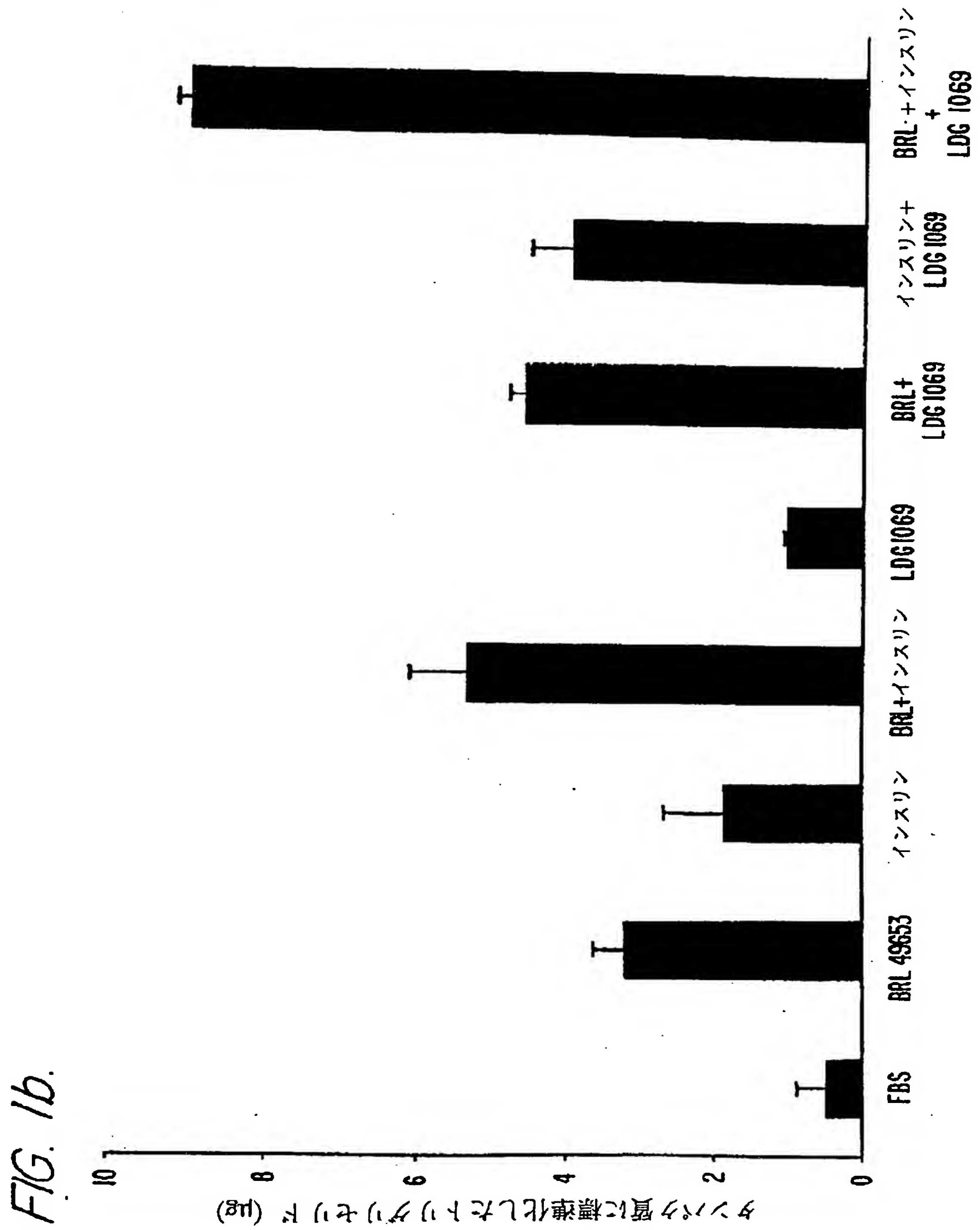
処理	実験A (+BRL) 分化した細胞の%	実験B (+BRL+インスリン) 分化した細胞の%
BRL (10 μ M)	10	80
BRL (1 μ M)	8	80
BRL (0.1 μ M)	5	60
BRL (10 μ M)	10	80
+ALRT 1057 (1 μ M)	80	99
+LGD 1069 (1 μ M)	80	99
+TTNPB (10nM)	5	50
BRL (1 μ M)	8	80
+ALRT 1057 (1 μ M)	65	90
+LGD 1069 (1 μ M)	65	90
+TTNPB (10nM)	2	30
BRL (0.1 μ M)	5	60
+ALRT 1057 (1 μ M)	45	85
+LGD 1069 (1 μ M)	45	90
+TTNPB (10nM)	0.2	

分化していないコントロールは0%の分化である。

【図1】

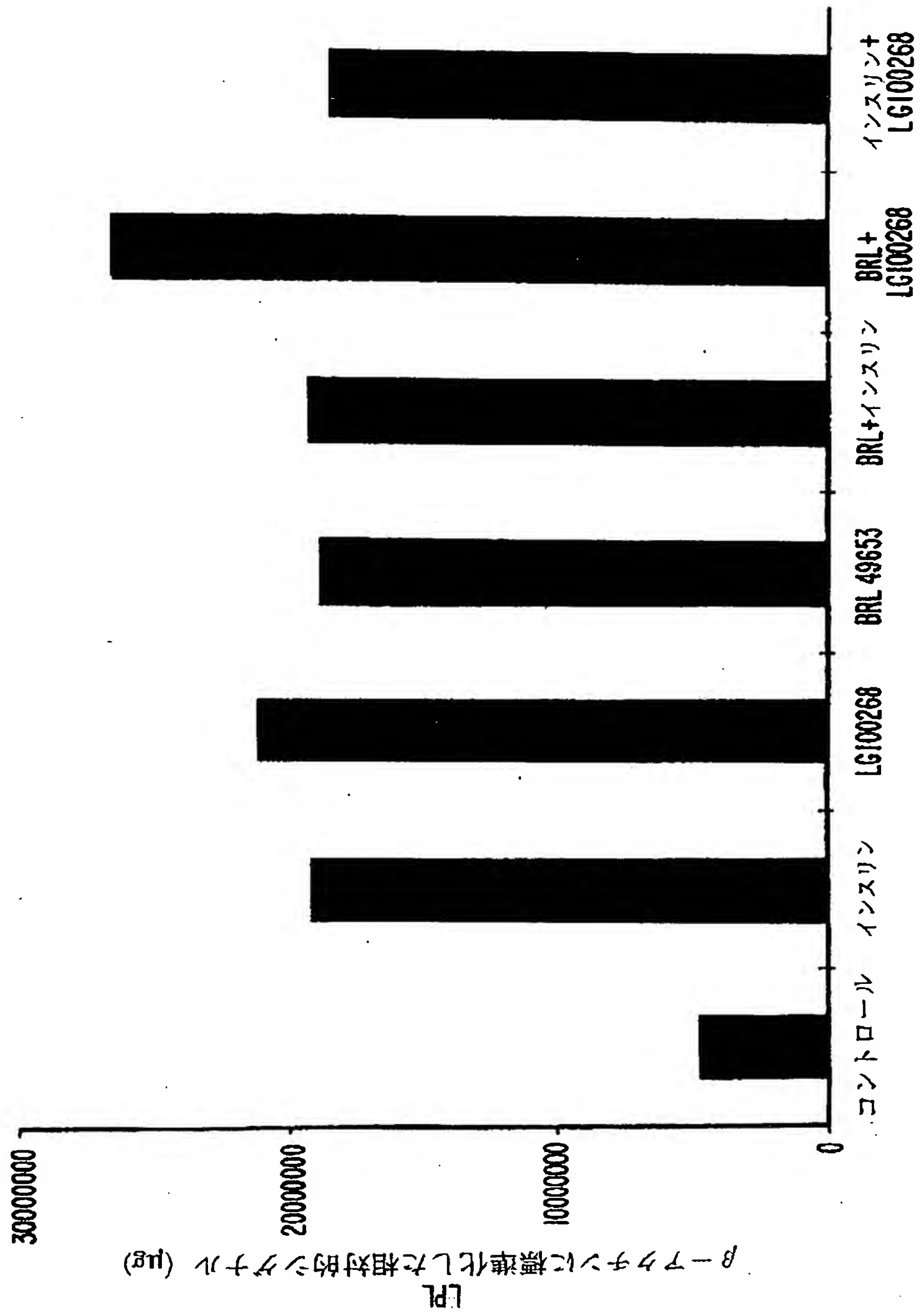


【図 1】



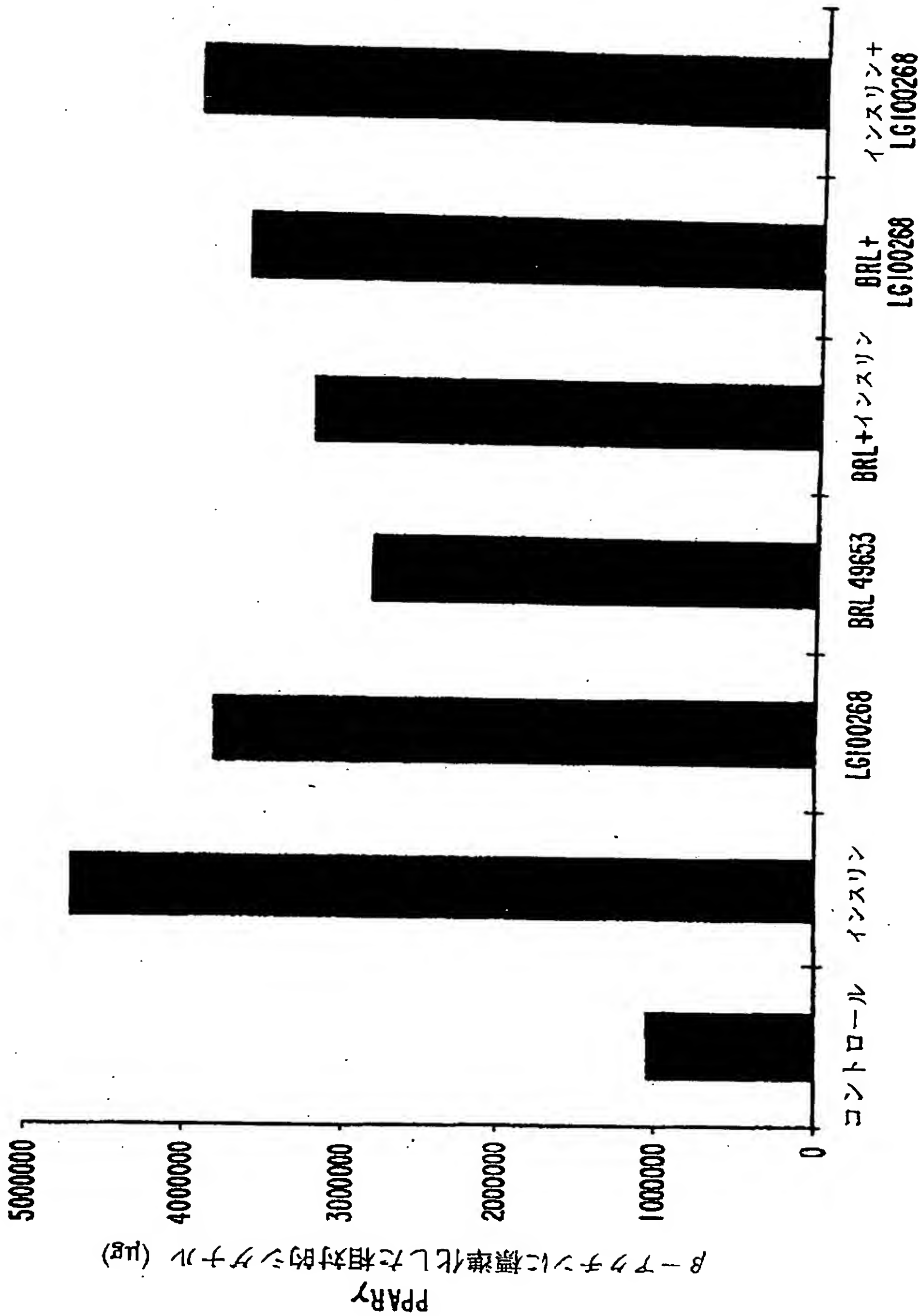
【図2】

FIG. 2a.



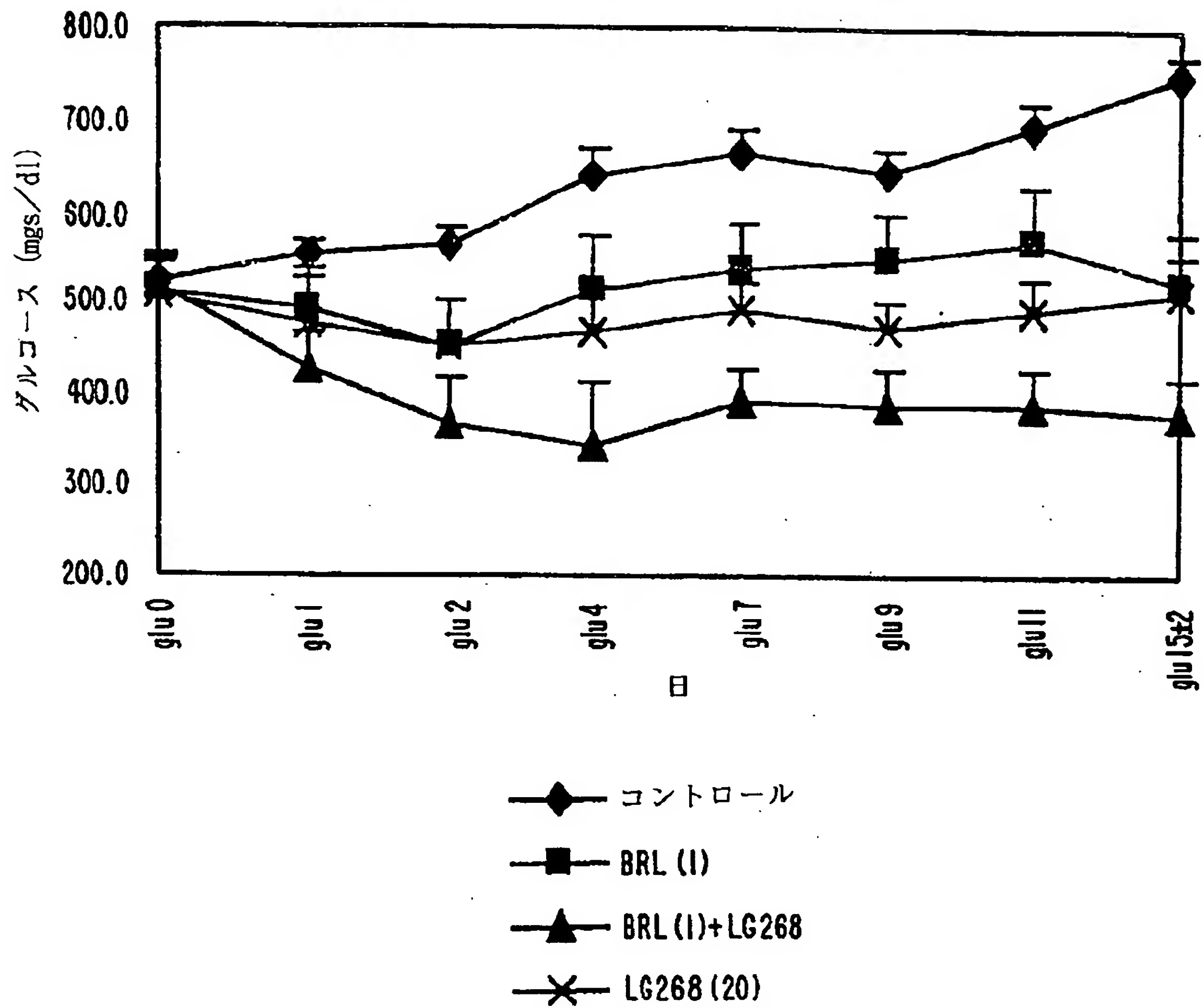
【図2】

FIG. 2b.



【図 3】

FIG. 3.



【図4】

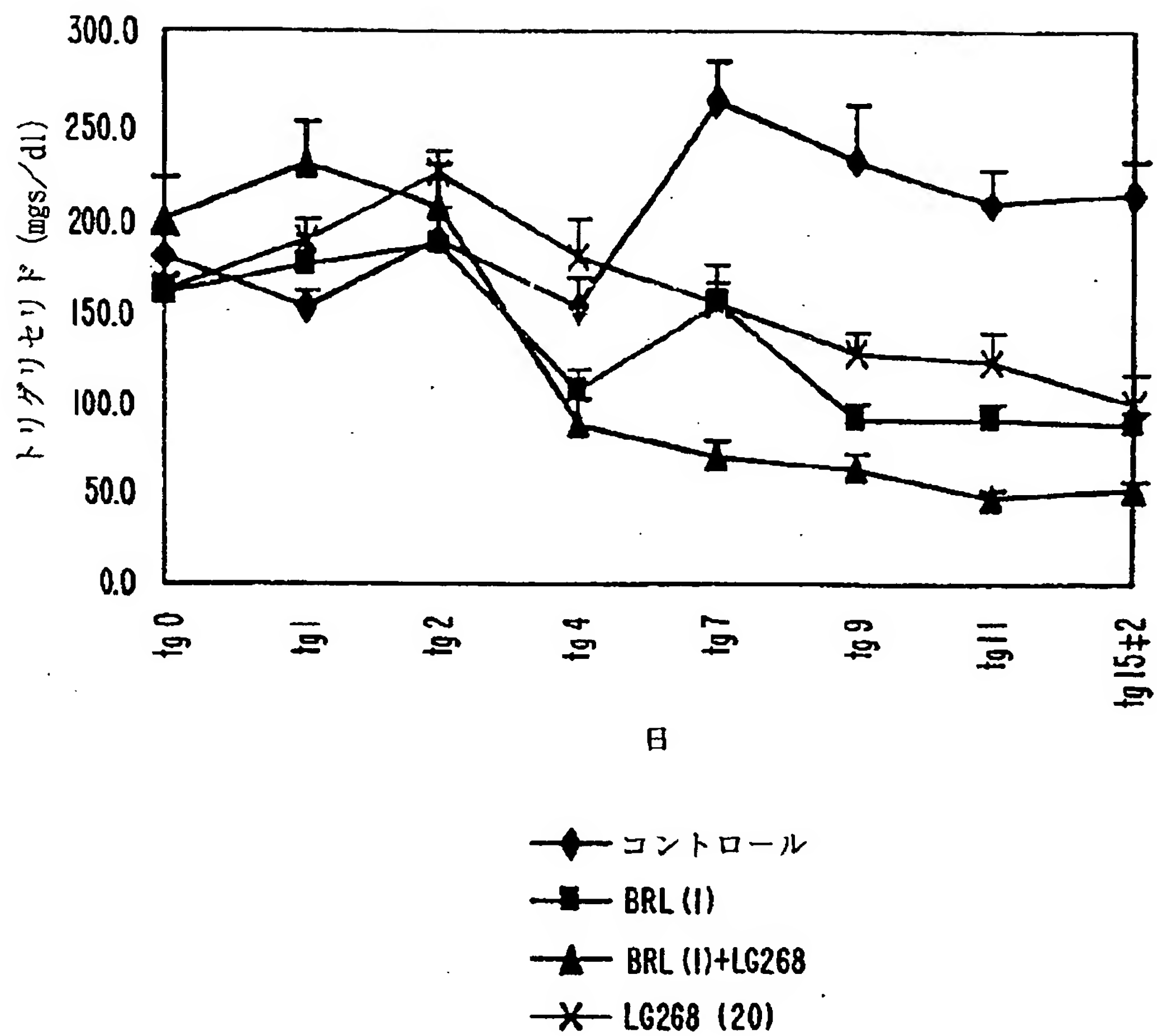
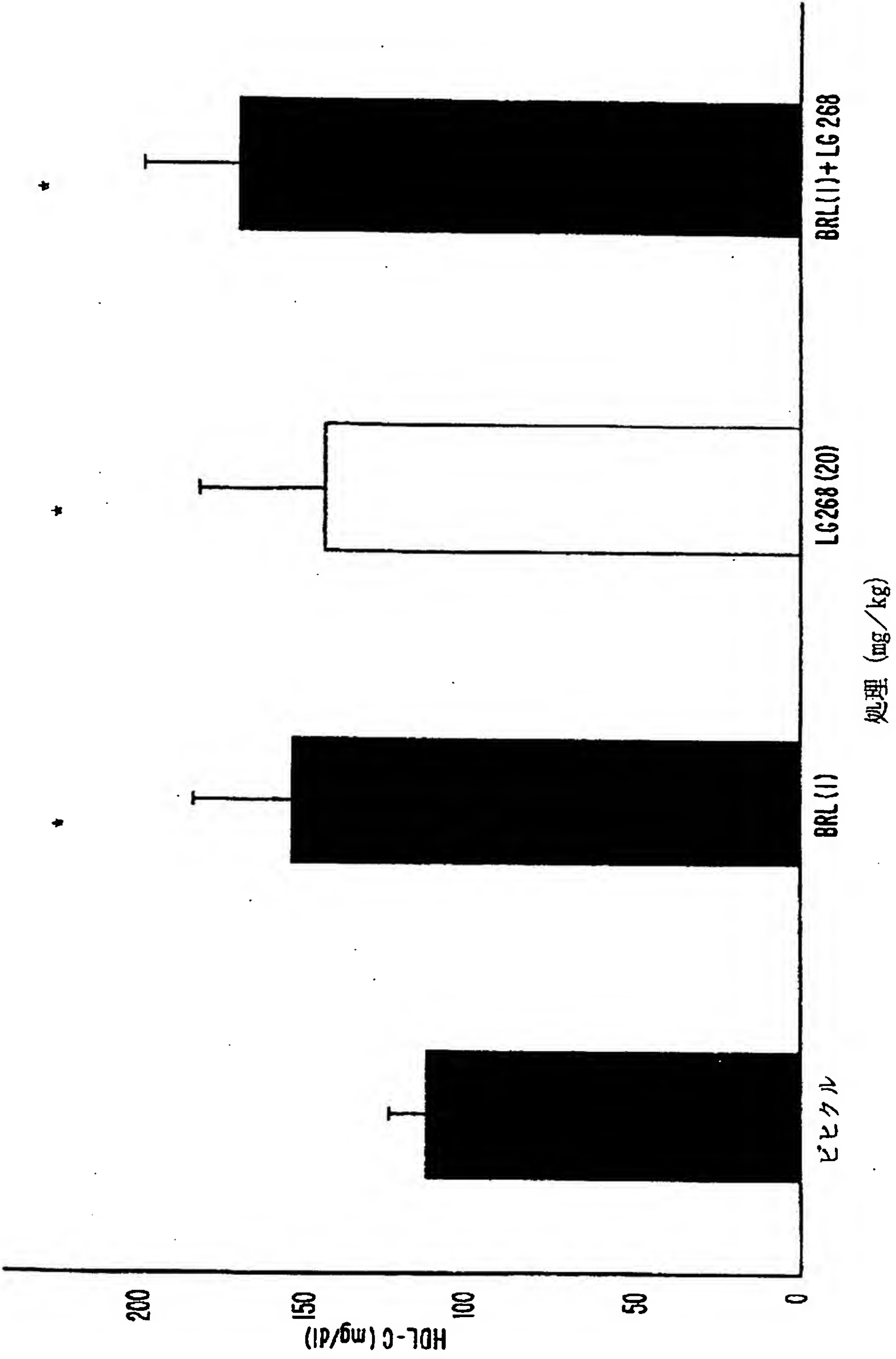


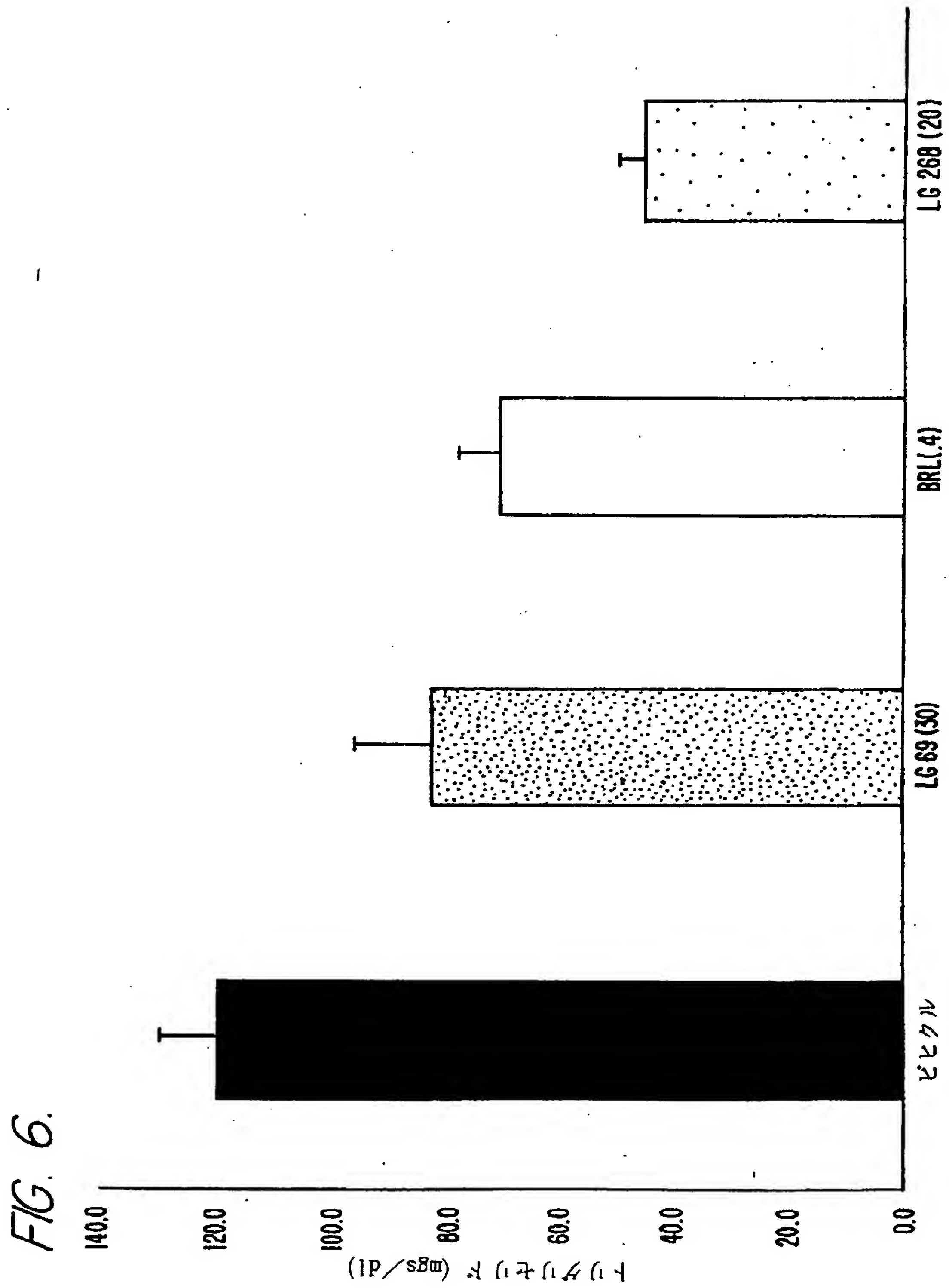
FIG. 4.

【図 5】

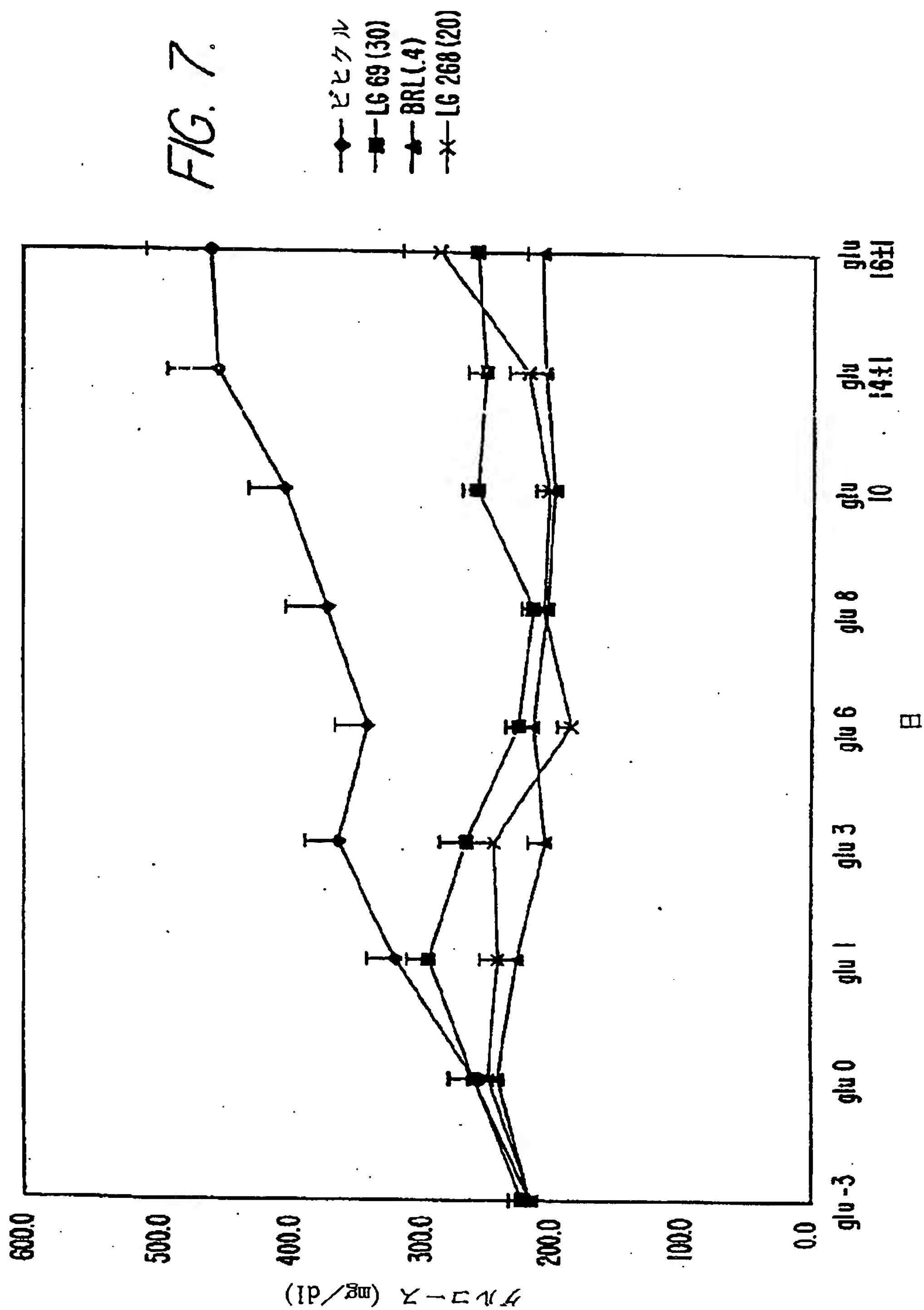
FIG. 5.



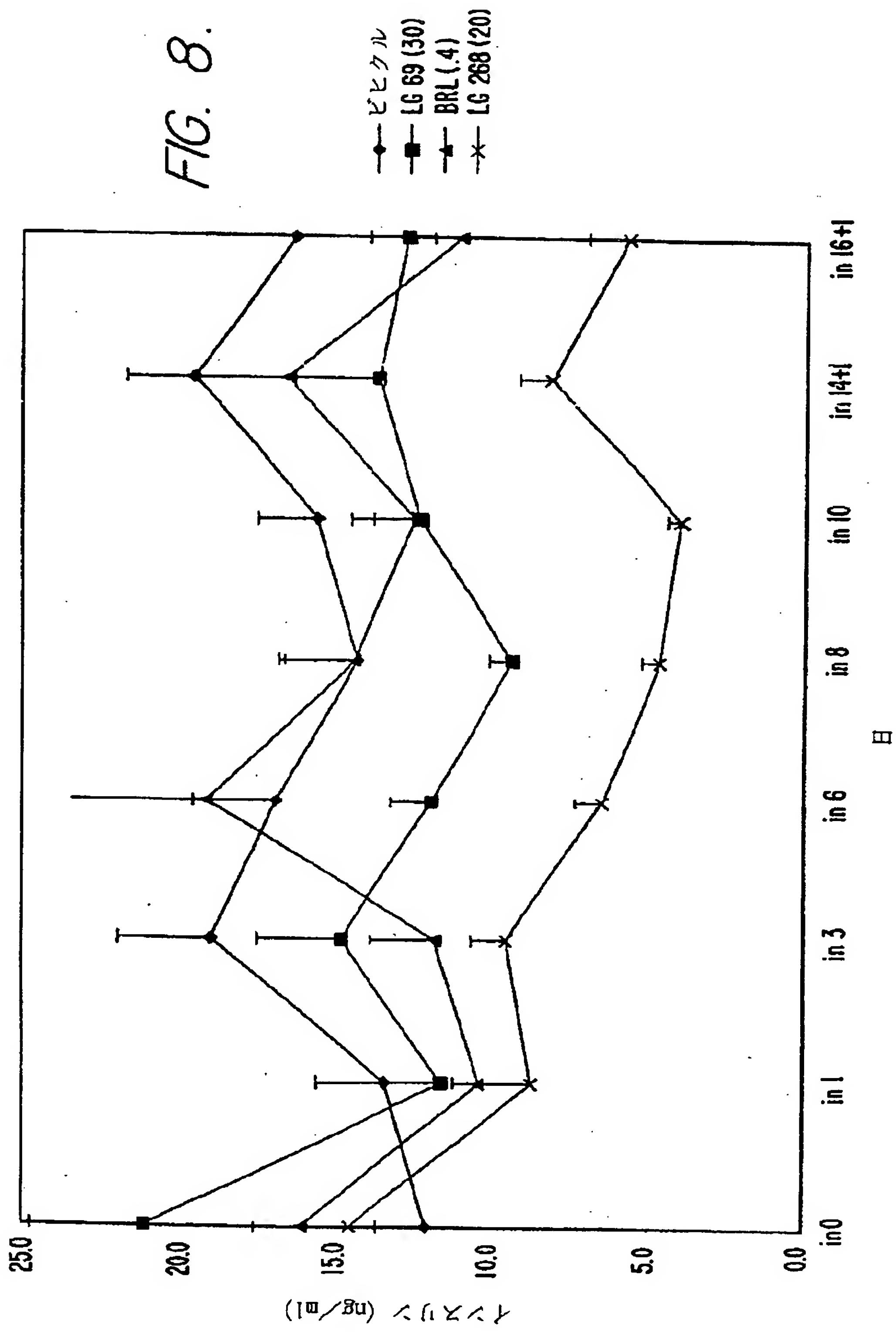
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/US 96/14904				
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A61K31/19 A61K31/455 A61K31/20 //(A61K31/455,31:44, 31:425,31:20,31:19)				
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A61K				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
P,X	DIABETOLOGIA, vol. 39, 5 September 1996, page A234 XP000613679 J.M. LENHARD ET AL.: "ANALYSIS OF THIAZOLIDINEDIONE, BIGUANIDE AND RETINOID EFFECTS ON ADIPOGENESIS AND THE NUCLEAR RECEPTORS PPARGamma AND RXR" see abstract ---	1-4,9, 10,13, 14,18,19		
P,X	EP 0 698 392 A (L'OREAL) 28 February 1996 see the whole document --- -/--	1-3,7,8, 13,14,17		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.				
<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.				
* Special categories of cited documents: <table border="0"> <tr> <td> "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report		
16 January 1997		31.01.97		
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Tx. 31 651 epo nl Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Hoff, P		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No
PCT/US 96/14904

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 93 21146 A (LIGAND PHARMACEUTICALS) 28 October 1993 cited in the application see abstract see page 10, line 34 - page 17 see page 66, line 13 - page 67, line 5; claims; examples 44-51; table 5 ---</p>	13-17
X	<p>EP 0 552 624 A (HOFFMANN-LA ROCHE) 28 July 1993 see the whole document ---</p>	13,17
X	<p>JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 38, no. 16, 4 August 1995, pages 3146-3155, XP000615461 M.F. BOEHM: "DESIGN AND SYNTHESIS OF POTENT RETINOID X RECEPTOR SELECTIVE LIGANDS THAT INDUCE APOPTOSIS IN LEUKEMIA CELLS" see the whole document ---</p>	13,15-17
A	<p>BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 204, no. 2, 1994, pages 498-504, XP000615920 I. SAFONAVA ET AL.: "FATTY ACIDS AND RETINOIDS ACT SYNERGISTICALLY ON ADIPOSE CELL DIFFERENTIATION" see the whole document ---</p>	1-32
A	<p>GENES & DEVELOPMENT, vol. 8, no. 10, 1994, pages 1224-1234, XP000577793 P. TONTONOV ET AL.: "mPPARgamma2: TISSUE-SPECIFIC REGULATOR OF AN ADIPOCYTE ENHANCER" cited in the application see the whole document ---</p>	1-32
A	<p>THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 270, no. 22, September 1995, pages 12953-12956, XP000577082 J.M. LEHMANN ET AL.: "AN ANTIDIABETIC THIAZOLIDINEDIONE IS A HIGH AFFINITY LIGAND FOR PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR GAMMA" cited in the application see the whole document -----</p>	1-32

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 96/14904

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Remark: Although claim(s) 1-12, 21-32
is(are) directed to a method of treatment of the human/animal
body, the search has been carried out and based on the alleged
effects of the compound/composition.
2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such
an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:

Please see next page

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all
searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment
of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report
covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is
restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/210

A compound cannot be sufficiently characterised by its pharmacological profile or its mode of action as it is done by expressions like "RXR agonist" or "PPARY agonist". In view of the large number of compounds which are theoretically contained within those definitions, the search had to be restricted on economic grounds to the compounds specifically mentioned in claims 5,6,8 and 10. (PCT Art.6; Guidelines Part B, chapter II. 7 last sentence and chapter III, 3.7)

Claims searched incompletely: 1-4, 7, 11-14, 20-24, 27, 31-32

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US 96/14904

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A-698392	28-02-96	FR-A- 2723315	09-02-96
		AU-A- 2723295	29-02-96
		JP-A- 8059459	05-03-96

WO-A-9321146	28-10-93	AU-A- 4118893	18-11-93
		AU-A- 5586894	15-08-94
		AU-A- 5664294	28-02-95
		AU-A- 6225894	15-08-94
		BR-A- 9307784	14-11-95
		CA-A- 2133587	28-10-93
		CA-A- 2153235	21-07-94
		CA-A- 2153236	09-02-95
		EP-A- 0637297	08-02-95
		EP-A- 0678086	25-10-95
		EP-A- 0678087	25-10-95
		JP-T- 8511027	19-11-96
		JP-T- 8505852	25-06-96
		JP-T- 8505359	11-06-96
		NO-A- 943943	21-12-94
		WO-A- 9415901	21-07-94
		WO-A- 9504036	09-02-95
		WO-A- 9415902	21-07-94

EP-A-552624	28-07-93	AU-B- 667864	18-04-96
		AU-A- 3186193	29-07-93
		CA-A- 2087251	23-07-93
		CN-A- 1074826	04-08-93
		HU-A- 9500256	28-09-95
		JP-A- 6107542	19-04-94
		NZ-A- 245686	26-05-95
		US-A- 5428071	27-06-95
		ZA-A- 9300286	22-07-93

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 60/009, 884

(32)優先日 1996年1月11日

(33)優先権主張国 米国 (US)

(31)優先権主張番号 60/018, 318

(32)優先日 1996年5月24日

(33)優先権主張国 米国 (US)

(31)優先権主張番号 60/021, 839

(32)優先日 1996年7月10日

(33)優先権主張国 米国 (US)

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, LS, MW, SD, SZ, UG), UA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN

(72)発明者 セサリオ, ローズマリー

アメリカ合衆国92117カリフォルニア州
サン・ディエゴ、ブリロ・ストリート5076
番

(72)発明者 マクハーザー, ランジャン

アメリカ合衆国92127カリフォルニア州
サン・ディエゴ、アベニダ・デ・ロス・ロ
ボス 11341番



INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification ⁶ : A61K 31/19, 31/455, 31/20 // (A61K 31/455, 31:44, 31:425, 31:20, 31:19)	A1	(11) International Publication Number: WO 97/10819
		(43) International Publication Date: 27 March 1997 (27.03.97)

(21) International Application Number: PCT/US96/14904

(22) International Filing Date: 17 September 1996 (17.09.96)

(30) Priority Data:

60/003,869	18 September 1995 (18.09.95)	US
60/004,897	6 October 1995 (06.10.95)	US
60/009,884	10 January 1996 (10.01.96)	US
60/018,318	24 May 1996 (24.05.96)	US
60/021,839	10 July 1996 (10.07.96)	US

(71) Applicant: LIGAND PHARMACEUTICALS INCORPORATED [US/US]; 9393 Towne Centre Drive, San Diego, CA 92121 (US).

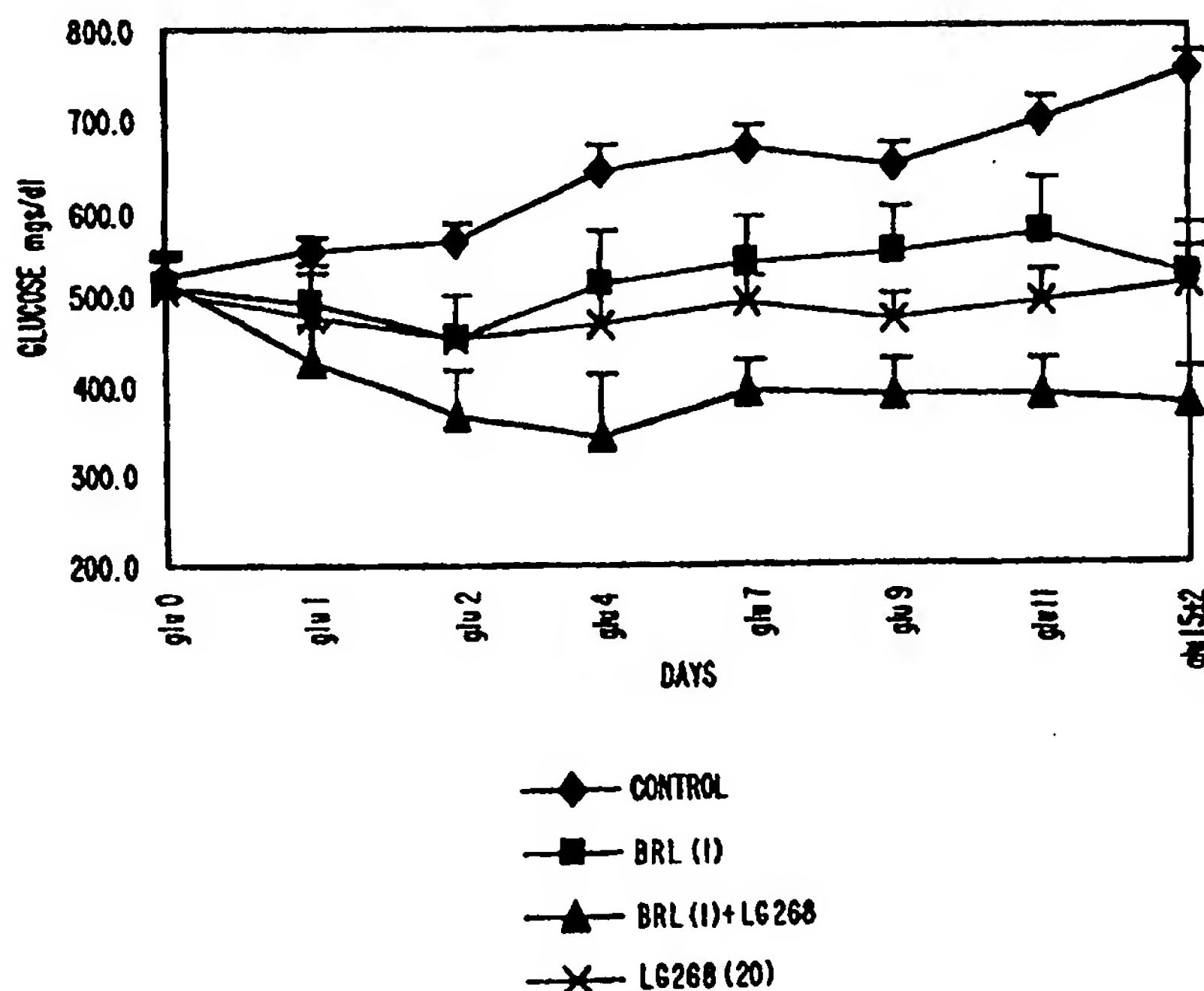
(72) Inventors: HEYMAN, Richard, A.; 147 Honeycomb Court, Encinitas, CA 92024 (US). CESARIO, Rosemary; 5076 Brillo Street, San Diego, CA 92117 (US). MUKHERJEE, Ranjan; 11341 Avenida De Los Lobos, San Diego, CA 92127 (US).

(74) Agents: WARBURG, Richard, J. et al.; Lyon & Lyon L.L.P., Suite 4700, 633 West Fifth Street, Los Angeles, CA 90071-2066 (US).

(81) Designated States: AL, AM, AT, AU, AZ, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, UZ, VN, ARIPO patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published*With international search report.**Before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of the receipt of amendments.*

(54) Title: TREATING NIDDM WITH RXR AGONISTS



(57) Abstract

This invention relates to methods and compositions for the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus using an RXR agonist alone or in combination with a PPAR γ agonist such as a thiazolidinedione compound.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.